

УДК 576.08

З.М. Бияшева*, ¹М.Н. Темирбекова, ^{2,3}Л.В. Омелянчук¹Казахский национальный университет имени аль-Фараби,
Республика Казахстан, г. Алматы²Институт молекулярной и клеточной биологии, Россия, г. Новосибирск³Новосибирский национальный исследовательский
государственный университет, Россия, г. Новосибирск

*E-mail: zarbiya@mail.ru

Основы функционирования и использования биосенсоров

Работа посвящена рассмотрению существующего разнообразия биосенсоров, используемых для контроля загрязнений окружающей среды. Представлен перечень типов биосенсоров. Рассмотрены физические принципы действия ферментных, микробных и ДНК-сенсоров. Представлены литературные данные о различиях в спектре экспрессирующихся генов в ответ на различные загрязнители. Это дает возможность создать коллекцию линий, отвечающих на специфический загрязнитель с помощью флуоресцентного сигнала тканей и тем самым реализовать оптосенсор на основе высших эукариот. Действительно, в настоящее время генетические коллекции Р-элементных инсерций (в частности энхансерных и GFP-белковых ловушек) дрозофилы, с помощью которых можно регистрировать активность генов, очень широк. Сделано заключение, что возможно создание биосенсоров на основе генетических конструкций *Drosophila melanogaster*, близких по свойствам к микробиологическим оптосенсорам или превосходящих их по чувствительности и специфичности.

Ключевые слова: биосенсор, фермент, ДНК, иммобилизация, окружающая среда, токсикант, GFP, люцифераза.

Z.M. Biyasheva, M.N. Temirbekova, L.V. Omel'yanchuk

Basics and Use of Biosensors

The work is devoted to the existing variety of biosensors used to control environmental pollution. Provides a list of types of biosensors. The physical principles of enzymatic, microbial and DNA-sensors have been studied. Literature data about the differences in the spectrum of expressed genes in response to various pollutants. This makes it possible to create a collection of lines corresponding to a specific contaminant through the fluorescent signal of tissue and thereby realize Optosensor by higher eukaryotes. Indeed, now genetic collections P-element insertion (in particular enhancer protein and GFP-trap) of *Drosophila*, via which it is possible to register the activity of genes greatly. According to the conclusion that it is possible to create biosensors based on *Drosophila melanogaster* genetic constructs, that are similar to the properties of microbiological optosensors or exceeding their sensitivity and specificity.

Key words: biosensor, enzyme, DNA, immobilization, environment, toxicant, GFP, luciferase.

З.М. Бияшева, М.Н. Темирбекова, Л.В. Омелянчук

Биосенсорлар пайдалану және жұмыс істеуін негіздері

Жұмыс қоршаған ортаның ластануын бақылау үшін пайдаланылатын қолданыстағы түрлі биосенсорларға арналған. Биосенсорлар түрлерінің тізімі келтірілген. Ферментті, микробтық және ДНК-лық сенсорлердің физикалық жұмыс істеу қағидалары қарастырылған. Әртүрлі ластаушы заттарға сәйкес жауап беретін экспрессияланатын гендердің спектрінің айырмашылықтарына әдебиет мәлеметтері келтірілген. Бұл ұлпаның флуоресцентті сигналы арқылы өзгеше ластаушыға жауап беретін желілер жинағын жасауға және осылайша жоғары эукариот негізіндегі оптосенсорын жүзеге асыруына мүмкіндік береді. Шынында да, қазіргі уақытта дрозофиланың Р-элемент кірістіруі (соның

ішінде энхансерлік және GFP- белоктық аулағыштар) арқылы гендердің белсенділігін тіркеу болатын генетикалық жинағы өте кең. *Drosophila melanogaster* генетикалық құрылымының негізінде, микробиологиялық опто сенсорларға жақын немесе оларданың сезімталдығы мен ерекшеліктерінен асып түсетін биосенсорлер құру мүмкіндігі жайлы қорытынды жасалды.

Түйін сөздер: биосенсор, фермент, ДНК, иммобилизациялау, қоршаған орта, уытты зат, GFP, люцифераза.

Введение

В последнее время возрастает интерес к биосенсорам. Это новые аналитические устройства, позволяющие перерабатывать информацию. В своей работе данные устройства используют различные биологические материалы, для определения молекул и выдающие информацию об их присутствии в виде передачи электрического сигнала [1]. Биосенсор – это устройство, в котором чувствительный слой, содержит биологический материал, такой как ферменты, ткани, бактерии, дрожжи, антигены\антитела, липосомы, органеллы, рецепторы, ДНК. Они непосредственно реагируют на присутствие определяемого компонента. В 2003 году суммарный мировой рынок продаж биосенсоров составил 7,2 млрд. долларов США, с ежегодным приростом на 10-14% в течение последующих восьми лет [2,3].

Принципы конструирования биосенсоров.

Биосенсор, представляет собой комбинированное устройство, состоящее из двух важных компонентов: биохимического преобразователя, выполняет функцию биологического распознавания, и физического преобразователя (транзьюсера), превращающий концентрационный сигнал в электрический, с помощью специальной аппаратуры (Рисунок 1) Существует большое разнообразие физических транзьюсеров: электрохимические, спектроскопические, термические, пьезоэлектрические, транзьюсеры на поверхностных акустических волнах и т.п. Если физический преобразователь использует изменение светопоглощения в области биослоя, то такой биосенсор называется, например, оптоволоконным, поскольку измеряемый сигнал будет передаваться измерительному прибору по оптическому волокну [4].

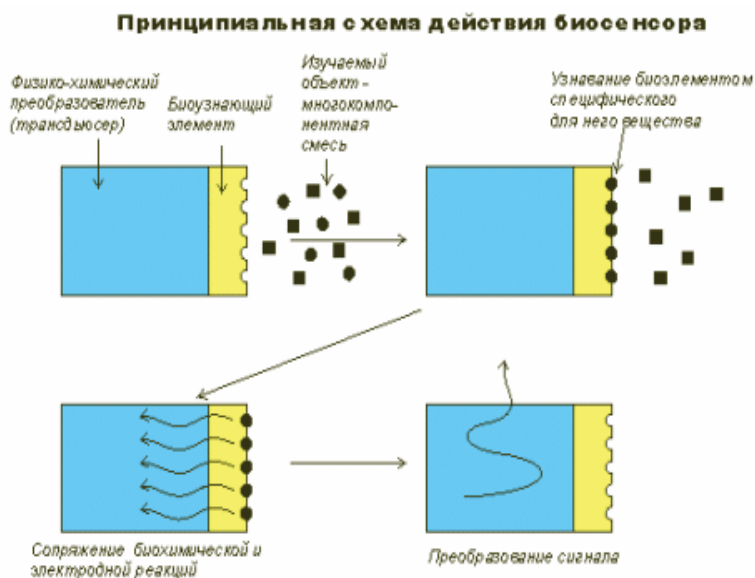


Рисунок 1 – Принципиальная схема действия биосенсора [5].

Типы биосенсоров. Биосенсоры могут быть сгруппированы в соответствии с их биологическими элементами или их преобразующими элементами (Таблица 1). Биологические элементы

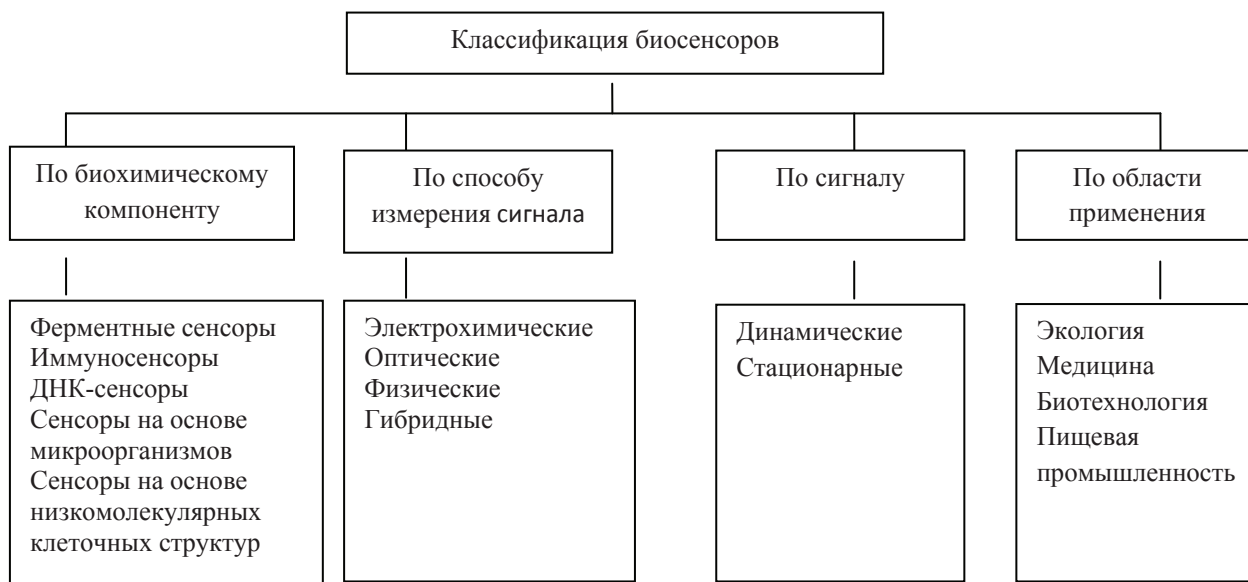
включают ферменты, антитела, микроорганизмы, биологические ткани и органеллы. На основе антител, также существуют биосенсоры, называемые иммуносенсоры. Биосенсоры можно

классифицировать в соответствии с природой биохимического преобразователя – ферментные электроды, иммуносенсоры и ДНК- сенсоры [6].

К ферментным сенсорам относят биологические препараты, проявляющие определенную биологическую активность. Ферментные сенсоры в свою очередь, подразделяются на субстратные и ингибиторные. Субстратные биосенсоры служат для определения субстратов ферментативных реакций, а ингибиторные для определения веществ, снижающих активность фермента. Иммуносенсоры, в качестве рецептора используют иммуноглобулины – защитные белки. Они используются для определения

взаимодействия – антител и антигена. При наличии специфических антител такие сенсоры могут определять практически любое соединение. ДНК-сенсоры в качестве компонента содержат нуклеиновые кислоты. Это не природные компоненты, выделенные из живого организма, а их фрагменты, которые называются ДНК-зондами или ДНК-праймерами. Основной задачей ДНК-сенсоров является выявление белков и низкомолекулярных соединений, взаимодействующих с определенными участками ДНК. Микробные биосенсоры используют для оценки состояния природных сообществ микроорганизмов, для контроля очистных сооружений [1,7].

Таблица 1 – Классификация биосенсоров.



Ферментные биосенсоры. Вещество, которое необходимо определить, диффундирует через полупроницаемую мембрану в тонкий слой биокатализатора, где протекает ферментативная реакция. (Рисунок 2) Продукт ферментативной реакции определяется с помощью электрода, на поверхности которого закреплен фермент, такое устройство называют ферментным электродом [8].

Ферментные сенсоры используют в эколого-аналитическом контроле для определения токсических соединений – загрязнителей окружающей среды антропогенного происхождения, также для оценки уровня загрязнения. (Рисунок 3) В состав биосенсора включают ферменты, исходя из того, какие ферментные системы под-

вергаются атаке токсиканта при его поступлении в организм [9,10].

Определение субстратов – загрязнителей окружающей среды имеет преимущество по сравнению с ингибиторными биосенсорами, то после измерения нет необходимости в регенерации фермента, связанного с ингибитором [11] (Таблица 2).

ДНК-сенсоры. Нуклеиновые кислоты обладают способностью образовывать различные связи с определяемыми соединениями [12]. ДНК реагирует с биомолекулами высокоспецифично, за счет кооперативного взаимодействия водородных, электростатических и донорно-акцепторных связей и гидрофобных взаимодействий [13].

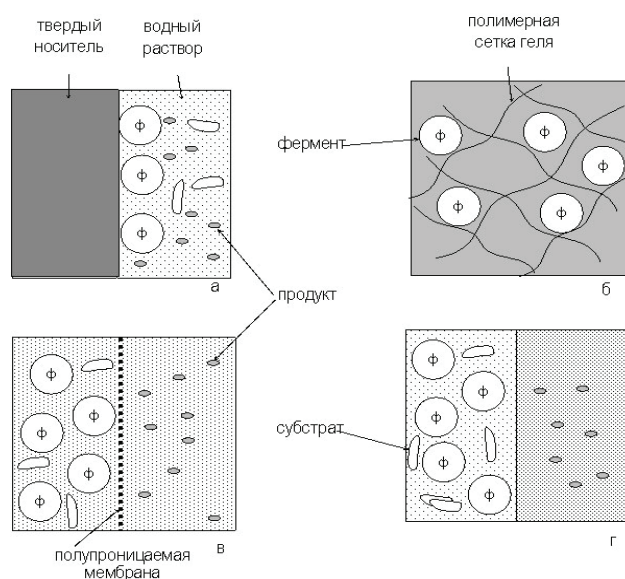


Рисунок 2 – Схематическое изображение способов иммобилизации ферментов в биосенсорах [7].

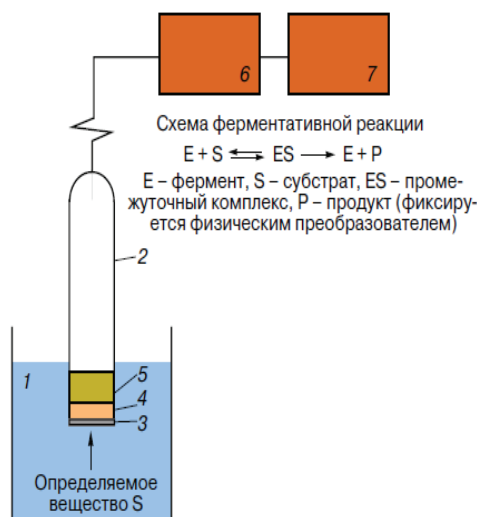


Рисунок 3 – 1-исследуемый раствор; 2-корпус биосенсора, 3 – полупроницаемая мембрана (для механического удержания биослоя), 4-слой биоматериала, 5 – физический преобразователь (электрод, пьезокристалл и т.д.), 6 – усилитель сигнала, 7 – самописец [7].

Таблица 2 – Ферменты для определения субстратов – загрязнителей [1]

Фермент	Субстрат	Фермент	Субстрат
Сульфитооксидаза	Сульфиты	Циотхром	Сульфиты
Лакказа	Фенолы, амины	Цитохром P 450	Амины, спирты
Пероксидаза	Фенолы, амины	Фосфатриэстераза	Пестициды
Тирозиназа	Фенолы, амины	Аминооксидаза	Амины
Уреаза	Мочевина	Роданеза	Сероводород

Создание ДНК-сенсоров решает ряд актуальных биоаналитических и медицинских проблем:

Идентификация биоматериала по последовательности нуклеотидов (расшифровка генома, установление отцовства, диагностика микроорганизмов).

Диагностика и лечение онкологических заболеваний (скрининг противоопухолевых препаратов).

Идентификация фармакологических препаратов противоракового действия и ДНК-повреждающих факторов [14].

При взаимодействии ДНК с определяемым веществом, можно выделить два основных подхода к их регистрации:

Это прямая детекция факта образования комплекса ДНК-вещество по изменению массы ДНК, которая сорбируется на поверхности сенсора – пьезоэлемента. Данный способ пригоден для регистрации процесса гибридизации или взаимодействия определенных последовательностей нуклеотидов, которые комплементарны друг другу. Второй подход это обнаружение изменений самой ДНК (конформационные изменения, частичный гидролиз, метилирование или частичное окисление отдельных нуклеотидов) по оптическим, электрохимическим или другим характеристикам нуклеотидной последовательности [15].

Микробные биосенсоры. В такого рода биосенсорах микроорганизмы используют как источник ферментативной реакции. В сравнении с ферментными биосенсорами они имеют ряд преимуществ:

Исключаются различные дорогостоящие операции выделения и очистки ферментных препаратов

Повышенная устойчивость ферментов в живых клетках

Присутствие в клетке кофакторов, которые необходимы для функционирования ферментов

Простота и универсальность методов измерения активности ферментов по показателям жизнедеятельности клетки (концентрация основных метаболитов, таких как ионы водорода, углекислый газ и аммиак, респираторная активность)

Амперометрические, потенциометрические и кондуктометрические устройства относятся к электрохимическим микробным биосенсорам [1].

Электрохимические микробные сенсоры. В амперометрических микробных сенсорах в качестве трансдьюсера используют кислородный электрод. Такие сенсоры чаще всего исполь-

зуют для измерения суммарного содержания легко окисляющихся органических соединений, аналог показателя БПК [16]. Сенсоры на основе микроорганизмов для измерения БПК включают бактерии-деструкторы *Torulopsis candida*, *Trichosporon cutaneum*, *Pseudomonas putida*, *Klebsiella oxytoca*, *Bacillus subtilis*, *Arxula adenivorans*, *Serratia mercerscens*, *Hansennula anomala*, а также термофильные бактерии и дрожжевые грибы. Лучше всего использовать несколько различных штаммов, а также природные микробиологические сообщества, например сообщество активного ила биологически очистных сооружений. Показателем количества воды служит измерение концентрации растворенного кислорода, поле введения субстрата, тестируемых сточных вод в процессе очистки. БПК-тестеры имеют высокую устойчивость сигнала и быстрым откликом сигнала [17].

Биосенсоры на основе *Trichosporon brassicae*, *Acetobacter aceti*, *Candida vini*, *Gluconobacter suboxydans*, *Aspergillus niger*, *Saccharomyces ellipsoideus*, *Pichia methanolica*, служат для определения этанола и отличаются высокой чувствительностью, но низкой селективностью [18]. Для повышения селективности сенсоров используют генетически модифицированные микроорганизмы с индуктор-зависимой продукцией определенных ферментов. Был предложен селективный метод определения ионов меди с помощью сенсора на основе рекомбинантного штамма *S. cerevisiae*, который имеет в своем составе плазмиды с *Cu* и индуцируется промотором *lacZ* гена [19]. Данный рекомбинантный штамм в присутствии ионов меди приобретает способность окислять лактозу, увеличивая тем самым потребление кислорода [20].

Еще одним применением амперометрических микробных биосенсоров – определение соединений, которые угнетают развитие микроорганизмов. В результате были предложены сенсоры для определения цианидов и синильной кислоты по подавлению активности *Nitrosomonas europaea*, *Thiobacillus ferrooxidans*, *Saccharomyces cerevisiae* и *Pseudomonas fluorescens* [21,22].

Микробные оптосенсоры. Самыми чувствительными являются биолюминесцентными системы, в которых используются светящиеся бактерии, имеют в своем составе фермент люциферазу. Для активации гена *lux*, определяющего люциферазу, используют репортеры индукторного и конститутивного типа. Экспрессия

гена в индукторных репортерах определяется наличием определяемого соединения. Уровень биолюминесценции, а также уровень продукции люциферазы зависит от концентрации активатора [23]. Данный тип регуляции относится к амперометрическим микробным сенсорам. Во втором случае промотор, присутствует в живой клетке с активным метаболизмом, его активность зависит от наличия определяемого соединения, и в зависимости от этого происходит модуляция уровня биолюминесценции. Данный способ используется в обобщенной оценке загрязнения окружающей среды. Биодоступность тяжелых металлов определяется токсичность ионов. Таким образом, микробные сенсоры дают реалистичные показатели, чем методы химического анализа. Так, был предложен биолюминесцентный микробиологический сенсор, для оценки ионов никеля и кобальта, на основе штамма *Ralstonia eutropha AE2515*, куда был внедрен регуляторный ген *cnrYXN*, имеющий связь с репортерной системой *luxCDBAE*. Для оценки концентрации ртути (II) использовали бактерии, содержащие оперон *merR* и систему *luxCDBAE*. Появлению биолюминесценции способствует промотор *mer*, который активируется при соединении иона Hg к *MerR*. Экспрессия гена *lux* также применяется для оценки общего стрессового состояния микроорганизмов, вызываемые неблагоприятной внешней средой, а также обнаружения ДНК-повреждающих факторов. На данном принципе основаны микробные сенсоры, несущие плазмиды с геном *lux* *Vibrio fischeri*. Их люминесценция повышается под действием токсических соединений [24-26].

Аналогично экспрессии гена *lux* во флуоресцентных микробных сенсорах применяют генетически модифицированные микроорганизмы с геном GFP, который кодирует синтез зелено-

го флуоресцирующего белка (green fluorescent protein, GFP) [27,28]. Является очень стабильным и применяется в качестве индикатора различных воздействий на микроорганизмы. Но одним из недостатков GFP является наличие временного промежутка между синтезом белка и его флуоресценцией. Такие биосенсоры на основе GFP часто используют для оценки содержания биодоступного для растений железа, определение арсенита, толуола и его производных. Флуоресцентное детектирование применяется также с флуоресцирующими морскими микроорганизмами, свечение которых зависит от содержания кислорода [29,30].

Заключение

Мы полагаем, что спектр возможных опто-сенсоров может быть существенно расширен за счет использования модельных объектов генетики. Действительно, в настоящее время генетические коллекции Р-элементных инсерций (в частности энхансерных и GFP-белковых ловушек) дрозофилы, с помощью которых можно регистрировать активность генов, очень широк. С другой стороны, полногеномный анализ изменения экспрессии генов под действием некоторых типичных загрязнителей окружающей среды у дрозофилы, проведенный в работе Москалева и др. показал, что имеются существенные различия в спектре экспрессирующихся генов в ответ на различные загрязнители [31]. Это дает возможность создать коллекцию линий, отвечающих на специфический загрязнитель с помощью флуоресцентного сигнала тканей и тем самым реализовать опто-сенсор на основе высших эукариот. В качестве физического регистрирующего сигнала может быть использован флуоресцентный микроскоп невысокого разрешения.

Литература

- 1 Евтюгин Г.А., Будников Г.К., Стойкова Е.Е. Основы биосенсорики: Учебное пособие. – Казань: Казанский гос. Ун-т, 2007. – 80 с.
- 2 Будников Г.К., Майстренко В.Н. Вяселев М.Р. Основы современного электрохимического анализа (Методы в химии). М.: Мир-БИНОМ, -2003. – 592 с.
- 3 Будников Г.К., Майстренко В.Н., Муринов Ю.И. Вольтампериметрия с модифицированными и ультрамикророзетдами. М.: Наука, -1994. -239 с.
- 4 Варфоломеев С.Д. Химическая энзимология. М.: Академия, -2005. – 480 с.
- 5 <http://www.gastroscan.ru/literature/authors/4789>
- 6 Rickert J., Hayward G.L., Cavic-Vlasak B.A., Thompson M., Gopel W. In: Sensors Update 5. Weinheim: Wiley-VCH, -1999. -P. 105.
- 7 Будников Г. К. Биосенсоры как новый тип аналитических устройств// Соросовский образовательный журн. -1996.- №12(26) –С. 26-32.

- 8 Clark L.C., Lyons C. // Ann N.Y Acad. Sci. -1962. -Vol.102. -P. 29-45.
- 9 Березин И.В., Богдановская В.А., Варфоломеев С.Д. и др. // Докл. АН СССР.-1978. -Т.240. -С. 615-619.
- 10 Корпан Я.И., Ельская А.В. // Биохимия. -1995. -Т.60. -С. 1988-1998.
- 11 Lozinsky V.I. et al. // Biotechnol. Lett. -1984.- Vol.2. -P. 43-48.
- 12 Евтюгин Г.А. Разработка электрохимических биосенсоров для чувствительного обнаружения специфических взаимодействий ДНК. -Дортмунд, – 2002. – С.90.
- 13 Стойкова Е.Е., Гольдфарб О.Э., Белякова С.В., Евтюгин Г.А., Будников Г.К. // Вестник ТО РЭА.-/ 2003.- №3.- С. 51-55.
- 14 Будников Г.К., Гольдфарб О.Э., Белякова С.В., // 17 Международный симпозиум по Биоэлектрохимия и биоэнергетики. Флоренция, Италия, 19-24 июня, 2003.- С. 198.
- 15 Евтюгин Г.А., Гольдфарб О.Э., Абдуллин Т.И., Будников Г.К. // «Новые тенденции в биосенсоров нуклеиновых кислот на основе», – 2003.- С. 25.
- 16 D'Souza S.F. Microbial biosensors // Biosens. Bioelectron. -2001. –Vol.16. -P. 337–353.
- 17 Bourgeois W., Burgess J.E., Stuetz R.M. On-line monitoring of wastewater quality: a review // Journal of Chemical Technology and Biotechnology. -2001. –Vol. 76. –P. 337-348.
- 18 Yu Lei., Wilfred Chen., Ashok Mulchandani //Microbial Biosensors/ Analytica Chimica Acta -2006. –P. 200-210.
- 19 Merkoci A. // Biosensing Using Nanomaterials. – Hoboken: Wiley, 2009. –P. 499.
- 20 Karyakin A.A. / Electrochemical sensors, Biosensors and their Biomedical Applications. N.Y., -2008. -P. 411.
- 21 Farre M., Barcelo D., Characterization of wastewater toxicity by means of a whole-cell bacterial biosensor, using *Pseudomonas putida* in conjunction with chemical analysis // J. basic Microbiol. -2006. -Vol.46 №5. -P. 339-347.
- 22 Будников Г.К., Евтюгин Г.А., Майстренко В.Н. Модифицированные электроды для вольтамперометрии в химии, биологии и медицине. -2010. – 416 с.
- 23 Manukhov I.V., Melkina O.E., Goryanin I.I., Zavilgelsky G.B. The N-terminal domain of the *Aliivibrio fischeri* LuxR is a target of the GroEL chaperon in. // Journal of Bacteriology. – 2010. – Vol. 192. – № 20. – P. 5549-5551.
- 24 Мелькина О. Е., Горянин И.И. GroEL шаперон необходим для фолдинга N-концевого домена LuxR – активатора транскрипции *lux*-оперона *Vibrio fischeri*. // Материалы V съезда Вавиловского общества генетиков и селекционеров. – Москва. – 2009. – С. 71.
- 25 Горянин И.И., Мелькина О.Е., Манухов И.В., Завильгельский Г.Б. Сравнительный анализ активности Триггер Фактора из мезофильных и психрофильных бактерий в процессе ренатурации люцифераз. // VI Съезд ВОГиС и ассоциированные генетические симпозиумы. – Новосибирск – 2014. – С. 45.
- 26 Хрульнова С.А., Марышев И.В., Манухов И.В., Горянин И.И., Васильева А., Салихова А., Завильгельский Г.Б. Механизмы Quorum Sensing у психрофильных бактерий *Aliivibrio logei*: сравнительный анализ активности белков-регуляторов LuxR1 и LuxR2. // VI Съезд ВОГиС и ассоциированные генетические симпозиумы. – Новосибирск. – 2014. – С. 178.
- 27 Li Y.F., Li F.Y., Ho C.L., Liao V.H. Construction and comparison of fluorescence and bioluminescence bacterial biosensors for the detection of bioavailable toluene and related compounds / Y.F. Li [et al.] // Environ Pollut. -2008. -Vol.152. -№1. -P. 123–132.
- 28 Ormö M, Cubitt AB, Kallio K, Gross LA, Tsien RY, Remington SJ. Crystal Structure of the *Aequorea victoria* Green Fluorescent Protein. Science -1996. -№273(5280) <http://www.sciencemag.org/content/273/5280/1392.long>.
- 29 Osamu Shimomura – Nobel Lecture: Discovery of Green Fluorescent Protein, GFP: Nobelprize.org http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2008/shimomura-lecture.html.
- 30 Tsien R.Y., The Green Fluorescent Protein. Annual Reviews of Biochemistry. -1998.-;№67.-P.509-544. <http://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.biochem.67.1.509>.
- 31 Moskalev A., Shaposhnikov M., Snezhkina, A., Kogan V., Plyusnina E., Peregudova D., Melnikova N., Uroshlev L., Mylnikov S., Dmitriev A., Plusnin S., Fedichev P., Kudryavtseva A., Mining Gene Expression Data for Pollutants (Dioxin, Toluene, Formaldehyde) and Low Dose of Gamma-Irradiation PLOS ONE 2014 | Volume 9 | Issue 1 | e86051.

Reference

- 1 Evtjugin G.A., Budnikov G.K., Stojkova E.E. Osnovy biosensoriki: Uchebnoe posobie. – Kazan': Kazanskij gos. Un-t, 2007. – 80 s.
- 2 Budnikov G.K., Majstrenko V.N. Vjaselev M.R. Osnovy sovremennogo e'lektrohimicheskogo analiza (Metody v himii). М.: Mir-BINOM, -2003. – 592 s.
- 3 Budnikov G.K., Majstrenko V.N., Murinov Ju.I. Vol'tamperimetrija s modifitsirovannymi i ul'tramikrojelektrodami. М.: Nauka, -1994. -239 s.
- 4 Varfolomeev S.D. Himicheskaja jenzimologija. М.: Akademija, 2005. – 480 s.
- 5 <http://www.gastroscan.ru/literature/authors/4789>
- 6 Rickert J., Hayward G.L., Cavic-Vlasak B.A., Thompson M., Gopel W. In: Sensors Update 5. Weinheim: Wiley-VCH, -1999. -P. 105.
- 7 Budnikov G. K. Biosensory kak novyj tip analiticheskikh ustrojstv// Sorosovskij obrazovatel'nyj zhurn. -1996.-№12(26) –S. 26-32.
- 8 Clark L.C., Lyons C. // Ann N.Y Acad. Sci. -1962. –Vol.102. -P. 29-45.
- 9 Berezin I.V., Bogdanovskaja V.A., Varfolomeev S.D. i dr. // Dokl. AN SSSR.-1978. -Т.240. -S. 615-619.

- 10 Korpan Ja.I., El'skaja A.V. // Biohimija. -1995. -Т.60. -S. 1988-1998.
- 11 Lozinsky V.I. et al. // Biotechnol. Lett. -1984.- Vol.2. -P. 43-48.
- 12 Evtjugin G.A. Razrabotka jelektrohimicheskikh biosensorov dlja chuvstvitel'nogo obnaruzhenija specificheskikh vzaimodejstvij DNK. -Dortmund, – 2002. – S.90.
- 13 Stojkova E.E, Gol'dfarb O.Je., Beljakova S.V.,Evtjugin G.A.,Budnikov G.K. // Vestnik TO RJeA.// - 2003.- №3.- S. 51-55.
- 14 Budnikov G.K, Goldfarb O.E., Beljakova S.V., // 17 Mezhdunarodnyj simpozium po Biojelektrohimiya i biojenergetiki. Florencija, Italija, 19-24 ijunja, 2003.- S. 198.
- 15 Evtjugin G.A, Goldfarb O.E, Abdullin T.I., Budnikov G.K. // «Novye tendencii v biosensorov nukleinovyh kislot na osnove», – 2003.- S. 25.
- 16 D'Souza S.F. Microbial biosensors // Biosens. Bioelectron. -2001. –Vol.16. -P. 337–353.
- 17 Bourgeois W., Burgess J.E., Stuetz R.M. On-line monitoring of wastewater quality: a review // Journal of Chemical Technology and Biotechnology. -2001. –Vol. 76. –P. 337-348.
- 18 Yu Lei., Wilfred Chen., Ashok Mulchandani //Microbial Biosensors/ Analytica Chimica Acta -2006. –P. 200-210.
- 19 Merkoci A. // Biosensing Using Nanomaterials. – Hoboken: Wiley, 2009. –P. 499.
- 20 Karyakin A.A. / Electrochemical sensors, Biosensors and their Biomedical Applications. N.Y., -2008. -P. 411.
- 21 Farre M., Barcelo D., Characterization of wastewater toxicity by means of a whole-cell bacterial biosensor, using *Pseudomonas putida* in conjunction with chemical analysis // J. basic Microbiol. -2006. -Vol.46 №5. -P. 339-347.
- 22 Budnikov G.K., Evtjugin G.A., Majstrenko V.N. Modificirovannye jelektrody dlja vol'tamperometrii v himii, biologii i medicine. -2010. – 416 s.
- 23 Manukhov I.V., Melkina O.E., Goryanin I.I, Zavilgelsky G.B. The N-terminal domain of the *Aliivibrio fischeri* LuxR is a target of the GroEL chaperon in. // Journal of Bacteriology. – 2010. – Vol. 192. – № 20. – P. 5549-5551.
- 24 Mel'kina O. E., Gorjanin I.I. GroEL shaperon neobhodim dlja foldinga N-koncevogo domena LuxR – aktivatora transkripcii lux-operona *Vibrio fischeri*. // Materialy V s#ezda Vavilovskogo obshhestva genetikov i selekcionerov. – Moskva. – 2009. – S. 71.
- 25 Gorjanin I.I., Mel'kina O.E., Manuhov I.V., Zavil'gel'skij G.B. Sravnitel'nyj analiz aktivnosti Trigger Faktora iz mezofil'nyh i psihrofil'nyh bakterij v processe renaturacii ljuciferaz. // VI S#ezd VOGiS i asociirovannye geneticheskie simpoziumy. – Novosibirsk – 2014. – S. 45.
- 26 Hrul'nova S.A., Maryshev I.V., Manuhov I.V., Gorjanin I.I., Vasil'eva A., Salihova A., Zavil'gel'skij G.B. Mehanizmy Quorum Sensing u psihrofil'nyh bakterij *Aliivibrio logei*: sravnitel'nyj analiz aktivnosti belkov-reguljatorov LuxR1 i LuxR2. // VI S#ezd VOGiS i asociirovannye geneticheskie simpoziumy. – Novosibirsk. – 2014. – S. 178.
- 27 Li Y.F., Li F.Y., Ho C.L., Liao V.H. Construction and comparison of fluorescence and bioluminescence bacterial biosensors for the detection of bioavailable toluene and related compounds / Y.F. Li [et al.] // Environ Pollut. -2008. -Vol.152. -№1. -P. 123–132.
- 28 Ormö M, Cubitt AB, Kallio K, Gross LA, Tsien RY, Remington SJ. Crystal Structure of the *Aequorea victoria* Green Fluorescent Protein. Science -1996. -№273(5280) <http://www.sciencemag.org/content/273/5280/1392.long>.
- 29 Osamu Shimomura – Nobel Lecture: Discovery of Green Fluorescent Protein, GFP: Nobelprize.org http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2008/shimomura-lecture.html.
- 30 Tsien R.Y., The Green Fluorescent Protein. Annual Reviews of Biochemistry. -1998.-№67.-P.509-544. <http://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.biochem.67.1.509>.
- 31 Moskalev A., Shaposhnikov M., Snezhkina, A., Kogan V., Plyusnina E., Peregudova D., Melnikova N., Uroshlev L., Mylnikov S., Dmitriev A., Plusnin S., Fedichev P., Kudryavtseva A., Mining Gene Expression Data for Pollutants (Dioxin, Toluene, Formaldehyde) and Low Dose of Gamma-Irradiation PLOS ONE 2014 | Volume 9 | Issue 1 | e86051.