

КІБЕРФІЗИЧНІ БІОСЕНСОРНІ ТА ІМУНОСЕНСОРНІ СИСТЕМИ

Розглянуто основні підходи, які лежать в основі розробки кіберфізичних біосенсорних та імуносенсорних систем. Проведена класифікація розроблюваних систем на основі чутливих елементів та з використанням різних режимів фізико-хімічного перетворення вимірювальної величини. Наведено технічні стратегії, що застосовуються для розробки біосенсорних та імуносенсорних систем, які засновані на виявленні біомаркерів з використанням і без використання міток. Узагальнено біосенсорні та імуносенсорні системи відносно принципів їх роботи та областей застосування. Розглянуто підхід до розробки кіберфізичних біосенсорних та імуносенсорних систем з використанням дискретної популяційної динаміки, яку поєднано з динамічною логікою, що використовується для дискретних подій.

Ключові слова: кіберфізична система, біосенсорна система, імуносенсорна система, види фізико-хімічного перетворення вимірювальної величини.

A.S. SVERSTIUK

SHEI "I. Ya. Gorbachevsky Ternopil State Medical University of MH of Ukraine"

CYBERPHYSIC BIOSENSORS AND IMMUNOSENSORS SYSTEMS

The main approaches underlying the development of cyberphysical biosensory and immunosensory systems are considered. The classification of developed systems based on sensitive elements and using different modes of physic-chemical transformation of the measuring quantity is carried out. The basic technical characteristics of cyberphysical biosensory and immunosensory systems are considered. The technical strategies used to develop biosensor and immunosensory systems based on the identification of biomarkers with and without the use of labels are presented. The paper deals with electrochemical, optical, silicon oxide based on nanomaterials, genetically encoded and cellular, cyberphysical biosensory and immunosensory systems developed using synthetic biology and genetic engineering. The biosensor and immunosensory systems are generalized, in relation to the principles of their work and areas of application. An approach to the development of cyberphysical biosensory and immunosensory systems using discrete population dynamics is considered, which is combined with the dynamic logic used for discrete events. A class of latency lattice differential equations that simulates the interaction of antigens and antibodies in immunopixels is used. The spatial operator simulates the interaction of the type of diffusion between the immunopips. The result of numerical simulation of the electronics signal from the converter of the cyberphysical immunosensory system, which characterizes the number of fluorescing pixels, is presented. The considered immunosensors are presented as a two-dimensional array of immunopicles. To take into account the continuous dynamics of the immunological response, each immunopixel is considered as a cyberphysical immunosensory system. The result of numerical modelling of the cyberphysical immunosensory system, in which there is a chaotic wave of fluorescing pixels, is presented.

Key words: cyberphysical system, biosensor system, immunosensory system, types of physic-chemical transformation of the measuring quantity.

Вступ. Стрімкий розвиток науки і техніки потребує появи нових методів детекції. Тому в науці та промисловості зростає інтерес до кіберфізичних систем (КФС), які є фізичними системами з можливістю інтеграції обчислень та фізичних процесів. Функціонування КФС тісно пов'язане з роботизованими та сенсорними системами, які обладнані «розумними» механізмами з достатніми обчислювальними можливостями для ефективного керування. Завдяки постійному науковому прогресу, КФС зазнають періодичних змін, які покращують зв'язок між фізичними та обчислювальними компонентами за допомогою «розумних» механізмів, покращуючи таким чином здатність до адаптації, підвищуючи автономність, ефективність, надійність, безпечність та розширюючи їх функціональність.

У останні роки ефективно використовуються кіберфізичні біосенсорні та імуносенсорні системи (КФБСІСС), які є альтернативою відомим методам вимірювання, що характеризуються поганою вибірковістю, високою вартістю, поганою стабільністю, повільною реакцією і часто можуть бути виконані тільки високо підготовленим персоналом. Це нове покоління давачів, які використовують в конструкції біологічний матеріал, що забезпечує дуже високу селективність та дає змогу швидко і просто проводити вимірювання [1].

Мета дослідження. Провести класифікацію КФБСІСС на основі чутливих елементів та з використанням різних режимів фізико-хімічного перетворення вимірювальної величини. Навести технічні стратегії, що застосовуються для розробки біосенсорних та імуносенсорних систем, які засновані на виявленні біомаркерів з використанням і без використання міток. Узагальнити КФБСІСС, відносно принципів їх роботи та областей застосування.

Аналіз останніх досліджень. Для кількісної оцінки інфікування організму за допомогою певних електрохімічних чи оптичних явищ у КФС використовуються клітинні біосенсори. У роботі [2] описано клітинний біосенсор, в якому використано електрохімічну імпедансну спектроскопію. Цей біосенсор призначений для підрахунку людських клітин CD4+. Область його зондування включає електродні пікселі, кожний з яких дорівнює за розміром клітині CD4+, захопленій пікселями електроду. Ці клітини виявляють шляхом спостереження за інформативними змінами на пікселі. Стан «ввімкнено» або «вимкнено» електродного пікселя вказує на виявлення однієї CD4+ клітини. Отже, щоб підрахувати клітини CD4+, потрібно підсумувати електродні пікселі в стані «ввімкнено».

Цей загальний підхід до кількісного виявлення клітин використано для моделювання імуносенсорної системи, в основі якої лежить явище флуоресценції. Імуносенсиори [3] є підгрупою біосенсорів, в яких відбувається імунохімічна реакція, пов'язана з перетворювачем. Принцип роботи усіх імуносенсорів полягає в специфічному молекулярному розпізнаванні антигенів антитілами для утворення стабільних комплексів.

Найчастіше КФС розробляються у вигляді вбудованих систем і мереж для моніторингу та контролю фізичних процесів в системах зі зворотнім зв'язком. У таких системах динаміка фізичних процесів є джерелом інформації досліджуваного явища з можливістю контролю та розрахунку сигналів керування об'єктом [4]. Кібер-фізичні системи ототожнюють з проявом четвертої промислової революції, яка відбувається в сучасному світі [5]. Існує також фізична можливість використання технологій «Internet of Things (Інтернет речей)», коли необхідно використовувати сигнали від давачів і вимірювальних приладів.

Таким чином, з'являється все більше публікацій, які привертають увагу до сучасних концепцій та пропонують нові інноваційні рішення. Наприклад, у роботі [6] А. Платцер запропонував підхід на основі «динамічної логіки», де описано та проаналізовано КФС. У багатьох роботах використано гібридні програми (ГП) простою мовою програмування з простою семантикою, які дають змогу програмісту звертатись безпосередньо до дійсних значень змінних, що є реальними величинами і визначають їх динаміку.

Термін «Кібер-фізична сенсорна система (КФСС)» [6] був введений для промислового застосування давачів. Загальне визначення КФСС передбачає «більш високий ступінь поєднання, розподілення системи, можливість використовувати вбудовані системи в області автоматизації та дотримання діючих стандартів». Розглянутий підхід використано для характеристики КФСС, що дає змогу виконати його чисельне моделювання.

У КФБСІСС фізично вимірні імунологічні показники перетворюються у цифрову інформацію, яка дає змогу проводити обробку сигналів в часі, використовуючи певні алгоритми.

В імуносенсорних пристроях використовуються чотири основні види детектування: електрохімічний (потенціометричний, амперометричний, смісний), оптичний, мікрогравіметричні та термометричні [3]. Усі типи сенсорів можуть використовуватися, як прямі (немарковані) або як непрямі (марковані) імуносенсиори. Прямі сенсори здатні виявляти фізичні зміни під час утворення імуного комплексу, в той час як непрямі, використовують різні рівні генерованого сигналу, які дають змогу більш чутливо та універсально проводити детектування у вимірювальних системах.

КФБСІСС є високо інтелектуалізованими інформаційними системами. Вони використовують доступний набір інтерфейсів, які дають змогу отримувати швидко та достовірну інформацію про стан та внутрішні дані системи, доступні для інших КФС. Згідно з [7] КФБСІСС як самоорганізуюча система потребує всебічних знань про власну динамічну структуру та інфраструктуру загальної системи. Для цього необхідно визначити типи імуносенсорних пристроїв, враховуючи їх функціональне застосування. Наприклад, імуносенсиори можна використовувати для оцінки критичних станів при серцево-судинних захворюваннях, об'єму інсуліну при вимірюванні вмісту глюкози в крові та виявлення кількісних показників у деяких фармацевтичних сполуках [8–10].

Мобільні КФБСІСС є перспективним напрямком досліджень та розробки. В якості прикладів можна навести мобільні електронні пристрої, які можуть переноситися людиною. Зростання популярності смартфонів призвело до підвищення цікавості через можливість застосування їх в КФБСІСС у зв'язку із можливістю використання їх надзвичайних обчислювальних потужностей, різних способів отримання та виведення інформації (сенсорні екрани, камери, GPS-чіпи, світлові датчики, сенсори руху), зручні комунікаційні механізми для виходу в Інтернет (WiFi, 3G), наявність каналів поширення додатків (Google Play Store та Apple App Store).

Для вирішення задач, які потребують більших ресурсів, ніж наділені КФБСІСС, можна використовувати підключення до мобільних систем або хмарних сервісів, що мають достатньо потужностей. Прикладами мобільних КФБСІСС є додатки, які відстежують та аналізують викиди CO₂, проводять моніторинг біологічних показників людини.

Підходи до розробки КФБСІСС. При розробці КФБСІСС використовують технічні підходи [11], які засновані на виявленні біомаркерів з використанням і без використання міток. Детектування з використанням міток засноване переважно на специфічних властивостях мічених з'єднань, що застосовуються для прицільного виявлення. КФБСІСС такого типу надійні, проте часто вимагають комбінації специфічних чутливих елементів, що виготовляються з використанням іммобілізованого білка-мішені. З іншого боку, методи [12, 13], що не використовують міток дають змогу виявляти молекули-мішені, не придатні для маркування. Останні міждисциплінарні підходи в галузі біотехнології та біоінженерії, електротехніки та електроніки зумовили розробку КФБСІСС, які не використовують маркери для різних методів виявлення з широким спектром напрямків застосування в області медицини, моніторингу якості продуктів харчування, оборонної промисловості та охорони навколишнього середовища.

Основні технічні характеристики КФБСІСС. Розглянемо основні технічні характеристики КФБСІСС згідно з [14].

1. Селективність є найважливішою характеристикою КФБСІСС, що вказує на його здатність відрізнити одну речовину від інших. Селективність визначається розпізнавальним елементом сенсора, хоча в ряді випадків на неї впливають і характеристики транз'єдусера.

2. Чутливість – найменша концентрація, що може бути визначена КФБСІСС. Як правило, чутливість КФБСІСС повинна бути нижчою за 1 ммоль, але в деяких випадках вона може досягати декількох фемтомолів (10^{-15} моль).

3. Точність. КФБСІСС повинна забезпечувати точність вимірювань, тобто результат, що одержують, має бути близьким до істинного значення.

4. Відтворюваність – це міра того, як повторюються результати при багаторазовому проведенні вимірювань КФБСІСС одним способом, а точність характеризує правильність отриманих результатів.

5. Природа розчину. Характеристики КФБСІСС можуть змінюватися залежно від рН, температури та іонної сили розчину.

6. Час відгуку – це той час, який потрібен для того, щоб КФБСІСС прийшла до стану рівноваги зі сполукою, що визначається.

7. Час регенерації – це час, необхідний для повернення КФБСІСС у початковий стан, коли його знову можна використовувати для вимірювання.

8. Термін експлуатації КФБСІСС визначається стабільністю розпізнавального елемента. Для КФБСІСС він може становити від декількох днів до місяців.

Розглянемо наступні види КФБСІСС: електрохімічні; оптичні; на основі оксиду кремнію; на основі наноматеріалів; генетично кодовані та клітинні, розроблені за допомогою синтетичної біології та генетичної інженерії [15].

Електрохімічні КФБСІСС. Створення глюкометра на основі глюкозооксидазного біосенсора [16] є першим кроком в історії розробки електрохімічних КФБСІСС. Такі системи дуже популярні в клініках і діагностичних установах, так як вони необхідні для періодичного моніторингу рівня глюкози в крові пацієнтів з цукровим діабетом. Однак ці КФБСІСС мають недоліки в силу нестабільної активності або негомогенності ферменту [17], яка зумовлює важливість додаткового калібрування. Фактично ці потенційні недоліки привели до розробки спектру біомолекул [11], які володіють різними електрохімічними властивостями, що зумовило появу більш стабільно працюючих КФБСІСС глюкози. Останнім часом електрохімічні КФБСІСС [18], як правило, виготовляються шляхом модифікування поверхні металевих і вуглецевих електродів з використанням біоматеріалів, таких як ферменти, антитіла або ДНК. Вихідний сигнал КФБСІСС зазвичай генерується в результаті специфічних реакцій зв'язування або каталітичних реакцій між матеріалами [18] на поверхні електроду. Необхідність розробки електрохімічних КФБСІСС стала особливо актуальною для клінічної діагностики захворювань [7–9, 19], в яких велике значення має раннє виявлення або довготривалий моніторинг біологічних показників. В даному контексті для розробки неферментативних КФБСІСС замість білків використовуються синтетичні матеріали. Цікавим є той факт, що різні типи біомолекул володіють різною стабільністю і вибірковістю, що в кінцевому підсумку дає змогу розробляти нові типи електрохімічних КФБСІСС для різних цілей. Ще одним сучасним винаходом є КФБСІСС для оцінки рівнів активних форм кисню в фізіологічних системах [20]. Залежно від сфери застосування були розроблені різні типи електрохімічних КФБСІСС.

Оптичні КФБСІСС. Відомо, що біомедицина та екологія вимагають розробки простих, швидко працюючих і високочутливих КФБСІСС. Це може бути реалізовано за допомогою іммобілайзерів [11, 21–25], які можуть виготовлятися із золота, матеріалів на основі вуглецю, кварцу або скла. Використання золотих наночастинок або квантових точок з використанням мікротехнологічних методів являє собою нову технологію розробки високочутливих і портативних КФБСІСС на основі ферменту цитохрому Р450 для застосування в певних цілях. Більш того, оптоволоконні хімічні сенсори дуже актуальні для різних областей, таких як пошук нових лікарських засобів, біозондування і біомедицини. Останнім часом гідрогелі, що застосовують в якості сенсорів на основі ДНК (дезоксирибонуклеїнова кислота), набувають популярності в якості матеріалів для іммобілізації в оптоволоконній хімії [25]. У порівнянні з іншими матеріалами іммобілізація в гідрогелі відбувається а трьох вимірах, що забезпечує завантаження великої кількості чутливих молекул. Гідрогелі (поліакриламід) представляють собою гідрофільні полімери [26] з поперечними зв'язками, яким для іммобілізації можна надавати різні форми, починаючи від тонких плівок і закінчуючи наночастинами. Гідрогелі вважаються простим субстратом для іммобілізації ДНК, які мають низку переваг, таких як можливість утримання молекул, їх контрольованого вивільнення, збагачення аналітів і захисту ДНК. Ці характеристики унікальні для гідрогелів в порівнянні з іншими матеріалами, придатними для біомолекулярної іммобілізації [26]. Більш того, хороша оптична прозорість гідрогелів надає можливість застосування зручної стратегії візуального виявлення. Методи іммобілізації ДНК-КФБСІСС [26] в монолітних поліакриламідних гелях і гелевих мікрочастинках часто розглядаються як технічне досягнення в області кіберфізичних технологій. Виявлення одиничних молекул для ідентифікації ДНК також стало можливим за допомогою електрохімічного окислення гідрозину [27].

КФБСІСС на основі оксиду кремнію. Пошук нових методів розробки КФБСІСС привів до використання унікальних властивостей матеріалів з оксиду кремнію, кварцу і скла. Серед цих матеріалів особливе місце займають наноматеріали на основі оксиду кремнію, що володіють найбільш високим потенціалом для використання у виробництві КФБСІСС завдяки своїй біосумісності, доступності, а також електронним, оптичним та механічним властивостям. Більш того, такі матеріали нетоксичні, що є дуже важливою умовою для біомедичних і біологічних сфер застосування. Матеріали на основі оксиду кремнію [22, 23] можуть використовуватися для біовізуалізації, біосенсорного аналізу та для лікування онкологічних

захворювань. Крім цього флуоресцентні матеріали на основі оксиду кремнію вже давно застосовуються в біовізуалізації. Цікавим є той факт, що нанопроводи з оксиду кремнію в комбінації з золотими наночастинками є гібридні структури [23], що застосовуються в рамках революційних підходів до лікування онкологічних захворювань. Ковалентне прикріплення модифікованих тіолами олігомерів ДНК до оксиду кремнію або скла забезпечує формування ДНК-плівок, що підвищують ефективність УФ-спектроскопії і методів гібридизації [26]. Незважаючи на безліч переваг застосування наночасток з оксиду кремнію, існує цілий ряд труднощів, які потребують вирішення. Серед них слід відзначити розробку методів великомасштабного малозатратного виробництва, а також біосумісності після біомолекулярного контакту. Вирішення цих питань забезпечить можливість перетворення наноматеріалів на основі оксиду кремнію в компоненти сучасних КФБСІСС.

Унікальні характеристики матеріалів на основі оксиду кремнію дали змогу розробити кілька нових високотехнологічних КФБСІСС для удосконалення вимірювальних приладів, що застосовуються в області біомедичних технологій [11, 21–23].

КФБСІСС на основі наноматеріалів. Для іммобілізації КФБСІСС використовується широкий спектр наноматеріалів, в тому числі наночастинки золота, срібла, оксиду кремнію і міді, а також матеріали на основі вуглецю, такі як графіт, графен і вуглецеві нанотрубки [13, 21, 28, 29, 30–33]. При розробці електрохімічних та інших КФБСІСС матеріалів на основі наночастинок забезпечується висока чутливість та специфічність. Серед металевих наночастинок для практичного використання найбільш придатні золоті наночастинки, стійкі до окислення [34] і практично нетоксичні. У той же час наночастинки з інших металів, таких як срібло, при введенні в організм, наприклад, для доставки препаратів, окислюються і надають токсичну дію. В цілому застосування наноматеріалів у біомедичних КФБСІСС асоційоване з потенційними складнощами [35]. Більш того, підходи підсилення сигналу за допомогою наночастинок мають потенційні переваги і недоліки [36]. Проте, наноматеріали вважаються важливими компонентами КФБСІСС, завдяки їх здатності підвищувати чутливість і пороги виявлення при детектуванні одиничних молекул [11]. В якості прикладу можна навести використання наночастинок на основі платини для електрохімічної ампліфікації з однорівневою реакцією для виявлення низької концентрації ДНК [27]. Аналогічним чином напівпровідникові квантові точки та нанокристали з оксиду заліза, що володіють як оптичними, так і магнітними властивостями, можна ефективно пов'язувати з пухлинспецифічними лігандами, такими як моноклональні антитіла, пептиди або малі молекули, для прицільного впливу на пухлинні антигени з високою афінністю та специфічністю [37]. Технологія квантових точок може застосовуватися при вивченні пухлинного мікрооточення при проведенні терапії, а також для транспортування нанопрепаратів.

Генетично кодовані КФБСІСС. Розробка мічених КФБСІСС із використанням генетично кодованому чи синтетичної флуоресценції надала можливість вивчати біологічні процеси, в тому числі різні молекулярні шляхи всередині клітин [39–41]. Фактично метод виявлення мічених флуоресценцією антитіл вперше був розроблений для отримання зображень фіксованих клітин [40]. Ця стратегія надала нові можливості розробки таких КФБСІСС з використанням біологічних білків і малих молекул, що зв'язуються з аналітичними і вторинними месенджерями. Згодом були розроблені флуоресцентні КФБСІСС для аналізу рухових білків, що використовують метод виявлення поодиноких молекул при певній концентрації аналіту [39]. Незважаючи на ці переваги, методологія виявлення і аналізу міток виглядає складною. Винахід зеленого флуоресцентного білка та інших флуоресціюючих білків надало ряд переваг з точки зору дизайну та ефективності оптичного зонду [40]. За останнє десятиліття генетично закодовані КФБСІСС, специфічні до молекул, які залучені в синтез енергії активних форм кисню і АТФ (аденозинтрифосфат) дали змогу краще вивчити фізіологію мітохондрій. АТФ є важливою сигнальною молекулою і терапевтичною мішенню для серцево-судинної системи. З огляду на це КФБСІСС, що функціонують на основі методу резонансного переносу енергії флуоресценції, були розроблені для візуалізації АТФ та іонів кальцію всередині клітини. Деякі з таких КФБСІСС ефективно застосовуються для *in vivo* візуалізації в первинних культурах і живих клітинах [40, 41]. На сьогоднішній день опрацьовано досить багато аспектів розробки КФБСІСС для візуалізації в умовах живого організму. З'явилися в результаті оптимізації таких підходів малокутове розсіювання рентгенівських променів для розробки кальцієвих каналів і резонансний перенос енергії флуоресценції визнані найкращими КФБСІСС методиками в сучасній фізіології [40]. Таким чином був розроблений ряд специфічних до певних мішеней КФБСІСС на основі мікроорганізмів (бактерій) і клітинних органел [42]. Як пояснювалося раніше, електрохімічні, електромеханічні і оптичні КФБСІСС розробляються для більш ефективного, в порівнянні з іншими молекулярними методиками, виявлення мікроРНК. Таким чином був розроблений ряд специфічних до певних мішеней КФБСІСС на основі мікроорганізмів (бактерій) і клітинних органел [44].

Завдяки появі *in vivo* візуалізації за допомогою КФБСІСС малих молекул з'явилася можливість краще зрозуміти клітинну активність та механізми дії багатьох інших молекул, в тому числі ДНК, РНК та мікроРНК. Перспективним напрямком є використання оптичних КФБСІСС. Вважається, що на сучасному етапі оптичні КФБСІСС при поєднанні технології флуоресценції та використання наноматеріалів, дають змогу отримувати кращі результати з точки зору застосування і чутливості.

Клітинні КФБСІСС. Протягом останніх років для моніторингу стану навколишнього середовища та біологічної очистки застосовуються останні інноваційні технології, які засновані на генетичній інженерії та синтетичній біології. Такі підходи використовуються для програмування мікроорганізмів, наділяючи їх

специфічними вихідними сигналами, чутливістю та селективністю. Наприклад, живі клітини, що володіють ферментативною активністю, що забезпечує деградацію ксенобіотичних з'єднань, будуть мати широке застосування для біологічної очистки [45]. Також були розроблені КФБСІСС на мікробному паливі для моніторингу біохімічної потреби в кисні і токсичності в навколишньому середовищі. Бактерії мають потенціал деградувати органічний субстрат і генерувати електричний сигнал для ферментації. По суті технологія полягає у використанні біоелектрохімічних пристроїв, що регулюють силу мікробного дихання для конвертації органічних субстратів безпосередньо в електричну енергію. Незважаючи на ці можливості, обмеження застосування мікробних КФБСІСС обумовлені низькою питомою потужністю з точки зору собівартості та експлуатаційних витрат. Завдяки останнім розробкам вдалося значно поліпшити продуктивність і знизити витрати за допомогою нових системних підходів, що дозволило створити на основі цих технологій платформу, яка володіє заданими властивостями клітинних КФБСІСС з автономними джерелами живлення [46, 47]. Ще однією областю використання клітинних КФБСІСС є їх застосування для виявлення пестицидів і важких металів [48], при якому еукаріотичні мікроорганізми мають перевагу перед прокариотами. Це переважно зумовлено перевагою розробки цілоклітинних КФБСІСС [48] для виявлення токсичності пестицидів і важких металів з високою вибірковістю і чутливістю. Крім цього більш складні еукаріотичні мікроорганізми можуть володіти більш широким спектром чутливості до різних токсичних молекул і мають більшу спорідненість до вищих тварин. Мікробні КФБСІСС мають широкий спектр застосування, починаючи від моніторингу навколишнього середовища і закінчуючи виробництвом енергії. У майбутньому такі клітинні КФБСІСС [46, 47] матимуть більш широке застосування для моніторингу забруднення навколишнього середовища важкими металами та екологічної ефективності при виробництві електроенергії.

Порівняльний аналіз КФБСІСС. Проведемо порівняння КФБСІСС з точки зору фізико-хімічних методів, які лежать в основі вимірювання. Біовиробництво медичних систем забезпечує кращі результати з точки зору масового виробництва КФБСІСС. Електрохімічні та оптичні КФБСІСС є основними технологічними компонентами при розробці високоякісних систем. Сучасні оптичні технології з використанням наномеханічних КФБСІСС на основі технології поверхневого резонансу покладені в основу інноваційних ДНК-чипів для проведення специфічного і чутливого аналізу в режимі реального часу [49–51]. Переваги оптичних КФБСІСС головним чином полягають у високій швидкості проведення аналізу із можливістю забезпечення стійкості сигналу під час вимірювання. Основним недоліком при цьому є висока вартість, яка обумовлена певними вимогами до устаткування. Вирішення технічних проблем, таких як складність іммобілізації, особливо для біовиробництва, і необхідність стерильних умов, є критичним питанням для отримання максимальної користі від оптичних КФБСІСС.

Новітні досягнення в області технологій мікро- і нановиробництва забезпечили можливість розробки механічних пристроїв з рухомими деталями нанорозмірів [52]. Можливість виробництва таких структур із застосуванням процедур обробки напівпровідникових матеріалів об'єднали біофізичні і біоінженерні принципи в напрямку прогресу мікро- і наноелектромеханічних КФБСІСС, придатних для масового виробництва [52]. Матеріали на основі оксиду кремнію успішно використовуються після мічення флуоресціюючими агентами або золотими наночастинками. Незважаючи на те, що такі КФБСІСС володіють більш високою точністю при виявленні індивідуальних молекул, однак їх масове виробництво не є дешевим [22, 23]. На сьогоднішній день жодна з КФБСІСС технологій не дає змогу в режимі реального часу здійснювати одночасний кількісний аналіз великих масивів зразків, однак ефективне впровадження нанотехнологій може зробити це реальністю [25].

Ще одним важливим технічним досягненням в галузі розробки біосенсорних та імуносенсорних систем стала можливість створення генетично закодованих або синтетичних флуоресцентних КФБСІСС для аналізу молекулярних механізмів біологічних процесів [39–41].

Інтегровані стратегії з використанням сучасних технологій розробки КФБСІСС [15], починаючи від електрохімічних, електромеханічних, флуоресцентно оптичних і закінчуючи генетично модифікованими мікроорганізмами, є сучасними методами розробки досліджуваних систем (таблиця 1).

В цілому можна підсумувати, що для створення високочутливих мініатюрних пристроїв [49] потрібна розробка різних мікро- і нано-КФБСІСС платформ із залученням інтегрованих технологій, які використовують електрохімічний або оптичний біоелектронні принципи з комбінацією біомолекул або біологічних матеріалів, полімерів і наноматеріалів.

Підхід до розробки КФБСІСС. Розроблено модель КФБСІСС, для чого було використано загальну схему кіберфізичної сенсорної системи, яка запропонована в роботі [10]. Базова модель була змінена з метою врахування особливостей імуносенсорів, які розглянуті у вигляді двовимірного масиву імунопікселів.

В основі КФБСІСС покладено концепцію КФС з врахуванням особливостей інтелектуальних імуносенсорів. З додатковими навиками сенсорна система розширюється до КФБСІСС. Це дає змогу отримати більше діагностичної інформації про досліджуваний об'єкт.

Динамічне логічне моделювання КФБСІСС. З метою моделювання динамічної логіки КФБСІСС використано синтаксис, запропонований А. Платцером для загальної КФС [6]. Для КФС використовується мова програмування ГП, яка має більше особливостей, ніж диференціальні рівняння. Перший рівень ГП є динамічними програмами з наступною граматику:

Таблиця 1

Класифікація КФБСІСС відносно принципів їх роботи та областей застосування.

№	Назва КФБСІСС	Фізико-хімічні методи, які лежать в основі вимірювання	Області застосування КФБСІСС
1.	КФБСІСС на основі електродів іммобілізованою глюкозооксидазою	Електрохімічні методи використанням окислення глюкози	Аналіз рівня глюкози в біологічних зразках
2.	КФБСІСС для вимірювання рівня гемоглобіну	Електрохімічні методи використанням ферроценілборної кислоти	Надійний аналітичний метод для аналізу гемоглобіну
3.	КФБСІСС для вимірювання рівня сечової кислоти	Електрохімічні методи	Для виявлення клінічних аномалій або захворювань
4.	КФБСІСС на основі інгібування ацетилхолінестерази	Електрохімічні методи	Аналіз впливу пестицидів
5.	П'єзоелектронні КФБСІСС	Електрохімічні методи	Виявлення органофосфатів і карбаматів
6.	Мікротехнологічні КФБСІСС	Оптичні методи використанням ферменту цитохрому Р450	Для розробки лікарських препаратів
7.	КФБСІСС на основі гідрогелю (поліакриламід)	Оптичні методи	Для іммобілізації біомолекул
8.	КФБСІСС на основі оксиду кремнію	Оптично-флуоресцентні методи	Біовізуалізація, біосенсорне виявлення і терапія онкологічних захворювань
9.	КФБСІСС на кристалах кварцу	Електромагнітні методи	Для розробки ультрависокочутливих методів виявлення білків у рідинах
10.	КФБСІСС на основі наноматеріалів	Електрохімічні або оптично-флуоресцентні методи	Для різноманітних областей застосування, в тому числі біомедицини, наприклад, в якості інструментів для діагностики
11.	Генетично закодовані або мічені флуоресцентним агентом КФБСІСС	Флуоресцентні методи	Для вивчення біологічних процесів, в тому числі різних внутрішньоклітинних молекулярних систем
12.	КФБСІСС на основі мікробіологічних елементів	Оптичні методи	Для моніторингу біохімічної потреби в кисні та токсичності в навколишньому середовищі, а також токсичності важких металів і пестицидів

$$\begin{aligned}
 a &::= V_{i,j}(n+1) = V_{i,j}(n) \exp\{\beta - \gamma F_{i,j}(n-r) - \delta_x V_{i,j}(n-r)\} + \hat{S}\{V_{i,j}(n)\}, \\
 F_{i,j}(n+1) &= F_{i,j}(n) \exp\{-\mu_y + \eta \gamma V_{i,j}(n-r) - \delta_y F_{i,j}(n)\} \& \Phi_t
 \end{aligned}
 \tag{1}$$

де $V_{i,j}(t)$ – концентрація аналітів в біопікселі (i, j) в момент часу t ; $F_{i,j}(t)$ – концентрація біологічно активних елементів в біопікселі (i, j) в момент часу t ; $\beta > 0$ – константа народжуваності для популяції антигенів; $\gamma > 0$ – ймовірнісна швидкість детектування, зв'язування та нейтралізації антигенів антитілами; $\mu_f > 0$ – стала смертності антитіл; β і δ_o – додатні числа, а $r \geq 0$ означає запізнення негативного відгуку колоній антигенів.

Представимо еволюційне домнене обмеження Φ_t у вигляді формули логіки першого порядку дійсної арифметики, $\Phi_t \stackrel{def}{=} V^{\min} \leq V_{i,j}(n) \leq V^{\max}$; $\wedge F^{\min} \leq F_{i,j}(n) \leq F^{\max} \wedge i, j = \overline{1, N} \wedge n > 0$

До моделі неперервної динаміки, що описується диференціальними рівняннями (1), додаємо динамічну логіку визначення станів флуоресценції для окремих біопікселів на основі перевірки виконання умови:

$$k_{fl} V_{i,j}(t) F_{i,j}(t) \geq \Theta_{fl},$$

де k_{fl} – коефіцієнт пропорційності інтенсивності флуоресценції до кількості контактів між аналітами та біологічно чутливими елементами;

Θ_{fl} – порогове значення, що визначає перехід до стану флуоресценції в біопікселі.

Функціонування імунопікселя (i, j) можна визначити двома станами щодо виникнення флуоресценції, а саме S_{fl} є станом флуоресценції, а S_{nonfl} – нефлуоресцентний стан. Використовуючи семантику логіки першого порядку стани S_{fl} і S_{nonfl} пікселя (i, j) можна визначити як $s_{fl} = k_{fl}V_{i,j}(t)F_{i,j}(t) \geq \theta_{fl}$, $s_{nonfl} = k_{fl}V_{i,j}(t)F_{i,j}(t) < \theta_{fl}$.

У комп'ютерних програмах відбуваються дискретні зміни, коли змінні приймають нові значення. Така ситуація відбувається у випадку виникнення явища флуоресценції в пікселі (i, j) . При цьому стані змінній $s_{fl,i,j}$ присвоюється значення одиниці. Отже, відбувається дискретна стрибкоподібна зміна значення $s_{fl,i,j}$. Таким чином, отримуємо дискретну модель змін $s_{fl,i,j} := 1$. Використовуючи цю особливість, можна моделювати будь-який піксель, що є дискретним або неперервним.

Аналізуючи вигляд електричного сигналу на рис. 1 можна зробити висновок, що при зміні значення r якісно змінюється поведінка пікселів і усього імуносенсора. На рис. 1 наведено результат чисельного моделювання КФБСІСС при $r = 16$, який відповідає стійкому фокусу (спостерігається біжуча хвиля нефлуоресціюючих пікселів). Порогове значення для флуоресценції при цьому становить $\Theta_{fl} = 1,5$.

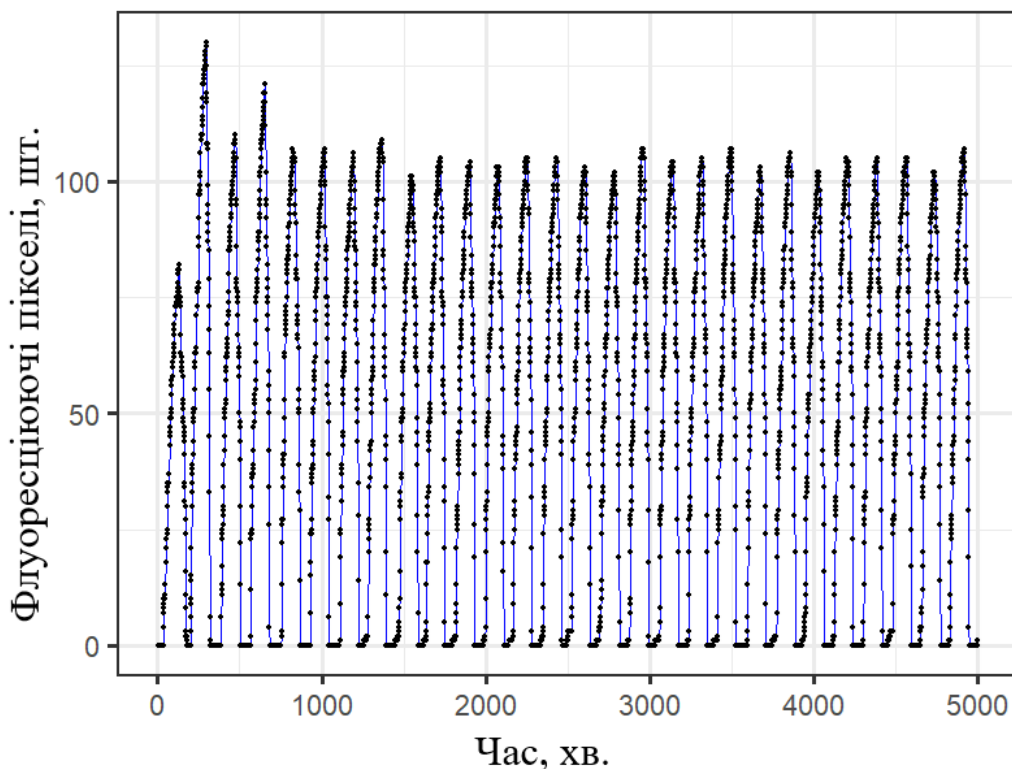


Рис. 1. Електричний сигнал з перетворювача в КФБСІСС, який характеризує число флуоресціюючих пікселів при $r = 16$

КФБСІСС проаналізовано за допомогою решітчастого графіку, що представляє флуоресцентні пікселі. При аналізі моделювання флуоресценції прийнято $\Theta_{fl} = 1,5$.

У випадку $r = 16$ спостерігається хаотична поведінка, яка починається з хвилеподібних змін у флуоресціюючих пікселях (див. рис. 1) та швидко переходить до хаотичних змін. На рис. 2 наведено результат чисельного моделювання системи (1), при якому спостерігається хаотична хвиля флуоресціюючих пікселів.

Розглянуті імуносенсори представлені у вигляді двовимірного масиву імунопікселів. Для врахування неперервної динаміки імунологічної відповіді кожний імунопіксель розглянуто в якості КФБСІСС. Як показали результати числового аналізу, флуоресціюючі стани в імунопікселях змінюються відповідно до законів дискретної динаміки. В моделі враховано взаємодію імунопікселів між собою за допомогою дифузії антигенів.

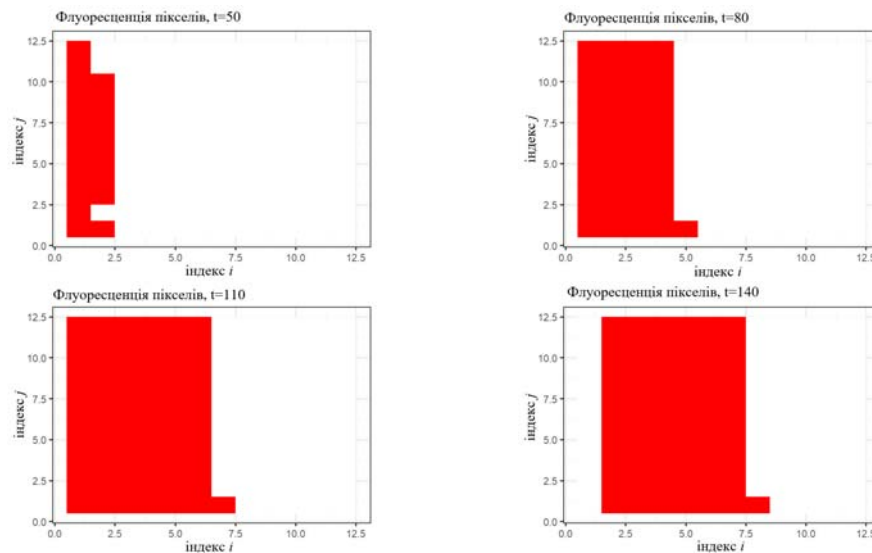


Рис. 2. Зображення флуоресценції в КФБСІСС для математичної моделі (1) як результат чисельного моделювання при $\Gamma = 16$

Висновки. Розробка КФБСІСС переважно спрямована на забезпечення чутливості, специфічності, відсутність токсичності, можливості виявлення малих молекул і економічної ефективності. Ці характеристики в кінцевому підсумку дозволяють досягти необхідних критичних параметрів і усунути основні обмеження КФБСІСС технологій. Деякі досягнення, як це видно за комбінуванням електрохімічних підходів з наноматеріалів, призводять до появи нових типів КФБСІСС. З цієї точки зору слід зазначити винахід, що полягає в нанесенні на поверхню шкіри у вигляді тимчасового шару електрохімічних біосенсорів для визначення вмісту в організмі хімічних сполук.

У роботі розглянуто підхід до розробки КФБСІСС. Математичний опис КФБСІСС містить дискретну популяційну динаміку, яку поєднано з динамічною логікою, що використовується для дискретних подій. Використано клас решітчастих різницевих рівнянь із запізненням в часі, які моделюють взаємодію антигенів та антитіл в імунопікселях. Просторовий оператор моделює взаємодію типу дифузії між імунопікселями.

В цілому більш ефективна розробка КФС з поєднанням біовиробництва та методів синтетичної біології, які засновані на використанні електрохімічних, оптичних, біоелектронних принципів або їх комбінації є запорукою успішної розробки потужних КФБСІСС для сучасного життя.

Література

1. P. Mehrotra "Biosensors and their applications – a review," *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, vol. 6, no. 2, pp. 153–159, May 2016.
2. X. Jiang, M. G. Spencer "Electrochemical impedance biosensor with electrode pixels for precise counting of CD4+ cells: A microchip for quantitative diagnosis of HIV infection status of AIDS patients," *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 25, no. 7, pp. 1622–1628, Mar. 2010.
3. P. B. Lippa, L. J. Sokoll, D. W. Chan "Immunosensors principles and applications to clinical chemistry," *Clinica Chimica Acta*, vol. 314, no. 1, pp. 1–26, 2001.
4. E. A. Lee "Cyber physical systems: Design challenges," Center for Hybrid and Embedded Software Systems, EECS University of California, Berkeley, CA 94720, USA, Tech. Rep. UCB/EECS-2008-8, Jan. 2008. Available at: <https://www2.eecs.berkeley.edu/Pubs/TechRpts/2008/EECS-2008-8.pdf>.
5. J. Lee, B. Bagheri, H.-A. Kao "A cyber-physical systems architecture for industry 4.0-based manufacturing systems," *Manufacturing Letters*, vol. 3, pp. 18–23, 2015, ISSN: 2213-8463. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S221384631400025X>.
6. C. Berger, A. Hees, S. Braunreuther, and G. Reinhart "Characterization of cyber-physical sensor systems," *Procedia CIRP*, vol. 41, pp. 638–643, 2016. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.procir.2015.12.019>.
7. Martsenyuk V.P., Klos-Witkowska A., Sverstiuk A.S. Study of classification of immunosensors from viewpoint of medical tasks // *Medical informatics and engineering*. – 2018. – № 1(41). – p.13-19.
8. Bihuniak T.V., Sverstiuk A.S., Bihuniak K.O. Deiaiki aspekty vykorystannia imunosensoriv u medytsyni // *Medychnyi forum*. – 2018. – no. 14 (14). – pp. 8-11.
9. Martsenyuk V.P., Klos-Witkowska A., Sverstiuk A.S., Bihuniak T.V. On principles, methods and areas of medical and biological application of optical immunosensors // *Medical informatics and engineering*. – 2018. – № 2 (42). – p.28-36.
10. H.J. Cruz, C.C. Rosa, A.G. Oliva "Immunosensors for diagnostic applications," *Parasitology research*, vol. 88, S4–S7, 2002.
11. I.A. Byely`x, M.F. Kleshhev Navchal`ny`j posibny`k „Biologichni ta ximichni sensorni sy`stemy” Xarkiv NTU «XPI», 2011. – 143s.

12. Turner, A. P. (2013). Biosensors: sense and sensibility. *Chem. Soc. Rev.* 42, 3184–3196. doi:10.1039/c3cs35528d.
13. Citartan, M., Gopinath, S. C., Tominaga, J., and Tang, T. H. (2013). Label-free methods of reporting biomolecular interactions by optical biosensors. *Analyst* 138, 3576–3592. doi:10.1039/c3an36828a.
14. Sang, S., Wang, Y., Feng, Q., Wei, Y., Ji, J., and Zhang, W. (2015). Progress of new label-free techniques for biosensors: a review. *Crit. Rev. Biotechnol.* 15, 1–17. doi:10.3109/07388551.2014.991270.
15. Vigneshvar S., Sudhakumari C. C., Senthilkumaran Balasubramanian, Prakash Hridayesh Recent Advances in Biosensor Technology for Potential Applications – An Overview *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* Volume 4. 2016 P. 11. ISSN=2296-4185 DOI=10.3389/fbioe.2016.00011.
16. Clark, L. C. Jr., and Lyons, C. (1962). Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 102, 29–45. doi:10.1111/1/j.1749-6632.1962.tb13623.x
17. Harris, J. M., Reyes, C., and Lopez, G. P. (2013). Common causes of glucose oxidase instability in in vivo biosensing: a brief review. *J. Diabetes Sci. Technol.* 7, 1030–1038.
18. Wang, B., Takahashi, S., Du, X., and Anzai, J. (2014). Electrochemical biosensors based on ferroceneboronic acid and its derivatives: a review. *Biosensors (Basel)* 4, 243–256. doi:10.3390/bios4030243.
19. Gruhl, F. J., Rapp, B. E., and Lange, K. (2013). Biosensors for diagnostic applications. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 133, 115–148. doi:10.1007/10_2011_130.
20. Mello, L. D., Kisner, A., Goulart, M. O., and Kubota, L. T. (2013). Biosensors for antioxidant evaluation in biological systems. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* 16, 109–120. doi:10.2174/138620713804806265.
21. Ogi, H. (2013). Wireless-electrodeless quartz-crystal-microbalance biosensors for studying interactions among biomolecules: a review. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* 89, 401–417. doi:10.2183/pjab.89.401.
22. Peng, F., Su, Y., Zhong, Y., Fan, C., Lee, S. T., and He, Y. (2014). Silicon nanomaterials platform for bioimaging, biosensing, and cancer therapy. *Acc. Chem. Res.* 47, 612–623. doi:10.1021/ar400221g.
23. Shen, M. Y., Li, B. R., and Li, Y. K. (2014). Silicon nanowire field-effect-transistor based biosensors: from sensitive to ultra-sensitive. *Biosens. Bioelectron.* 60, 101–111. doi:10.1016/j.bios.2014.03.057.
24. Schneider, E., and Clark, D. S. (2013). Cytochrome P450 (CYP) enzymes and the development of CYP biosensors. *Biosens. Bioelectron.* 39, 1–13. doi:10.1016/j.bios.2012.05.043.
25. Dias, A. D., Kingsley, D. M., and Corr, D. T. (2014). Recent advances in bioprinting and applications for biosensing. *Biosensors (Basel)* 4, 111–136. doi:10.3390/bios4020111.
26. Khimji, I., Kelly, E. Y., Helwa, Y., Hoang, M., and Liu, J. (2013). Visual optical biosensors based on DNA-functionalized polyacrylamide hydrogels. *Methods* 64, 292–298. doi:10.1016/j.jymeth.2013.08.021.
27. Kwon, S. J., and Bard, A. J. (2012). DNA analysis by application of Pt nanoparticle electrochemical amplification with single label response. *J. Am. Chem. Soc.* 134, 10777–10779. doi:10.1021/ja304074f.
28. Li, M., Li, R., Li, C. M., and Wu, N. (2011). Electrochemical and optical biosensors based on nanomaterials and nanostructures: a review. *Front. Biosci. (Schol Ed)* 3:1308–1331. doi:10.2741/228.
29. Zhou, Y., Chiu, C. W., and Liang, H. (2012). Interfacial structures and properties of organic materials for biosensors: an overview. *Sensors (Basel)* 12, 15036–15062. doi:10.3390/s121115036.
30. Ko, P. J., Ishikawa, R., Sohn, H., and Sandhu, A. (2013). Porous silicon platform for optical detection of functionalized magnetic particles biosensing. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 13, 2451–2460. doi:10.1166/jnn.2013.7406.
31. Senveli, S. U., and Tigli, O. (2013). Biosensors in the small scale: methods and technology trends. *IET Nanobiotechnol.* 7, 7–21. doi:10.1049/iet-nbt.2012.0005.
32. Valentini, F., Galache, F. L., Tamburri, E., and Palleschi, G. (2013). Single walled carbon nanotubes/polypyrrole-GOx composite films to modify gold microelectrodes for glucose biosensors: study of the extended linearity. *Biosens. Bioelectron.* 43, 75–78. doi:10.1016/j.bios.2012.11.019.
33. Lamprecht, C., Hinterdorfer, P., and Ebner, A. (2014). Applications of biosensing atomic force microscopy in monitoring drug and nanoparticle delivery. *Expert. Opin. Drug Deliv.* 11, 1237–1253. doi:10.1517/17425247.2014.917078.
34. Hutter, E., and Maysinger, D. (2013). Gold-nanoparticle-based biosensors for detection of enzyme activity. *Trends Pharmacol. Sci.* 34, 497–507. doi:10.1016/j.tips.2013.07.002
35. Su, L., Jia, W., Hou, C., and Lei, Y. (2011). Microbial biosensors: a review. *Biosens. Bioelectron.* 26, 1788–1799. doi:10.1016/j.bios.2010.09.005.
36. Ding, L., Bond, A. M., Zhai, J., and Zhang, J. (2013). Utilization of nanoparticle labels for signal amplification in ultrasensitive electrochemical affinity biosensors: a review. *Anal. Chim. Acta* 797, 1–12. doi:10.1016/j.aca.2013.07.035.
37. Nie, S., Xing, Y., Kim, G. J., and Simons, J. W. (2007). Nanotechnology applications in cancer. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 9, 257–288. doi:10.1146/annurev.bioeng.9.060906.152025.
38. Jain, R. K. (2013). Normalizing tumor microenvironment to treat cancer: bench to bedside to biomarkers. *J. Clin. Oncol.* 31, 2205–2218. doi:10.1200/JCO.2012.46.3653.
39. Kunzelmann, S., Solscheid, C., and Webb, M. R. (2014). Fluorescent biosensors: design and application to motor proteins. *EXS* 105, 25–47. doi:10.1007/978-3-0348-0856-9_2.
40. Oldach, L., and Zhang, J. (2014). Genetically encoded fluorescent biosensors for live-cell visualization

- of protein phosphorylation. *Chem. Biol.* 21, 186–197. doi:10.1016/j.chembiol.2013.12.012.
41. Randriamampita, C., and Lellouch, A. C. (2014). Imaging early signaling events in T lymphocytes with fluorescent biosensors. *Biotechnol. J.* 9, 203–212. doi:10.1002/biot.201300195.
42. De, M. R., Carimi, F., and Frommer, W. B. (2014). Mitochondrial biosensors. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 48, 39–44. doi:10.1016/j.biocel.2013.12.014.
43. Su, T., Zhang, Z., and Luo, Q. (2012). Ratiometric fluorescence imaging of dual bio-molecular events in single living cells using a new FRET pair mVenus/ mKOkappa-based biosensor and a single fluorescent protein biosensor. *Biosens. Bioelectron.* 31, 292–298. doi:10.1016/j.bios.2011.10.034.
44. Johnson, B. N., and Mutharasan, R. (2014). Biosensor-based microRNA detection: techniques, design, performance, and challenges. *Analyst* 139, 1576–1588. doi:10.1039/c3an01677c.
45. Park, K., Jung, J., Son, J., Kim, S. H., and Chung, B. H. (2013). Anchoring foreign substances on live cell surfaces using Sortase A specific binding peptide. *Chem. Commun. (Camb)* 49, 9585–9587. doi:10.1039/c3cc44753g.
46. Du, Z., Li, H., and Gu, T. (2007). A state of the art review on microbial fuel cells: a promising technology for wastewater treatment and bioenergy. *Biotechnol. Adv.* 25, 464–482. doi:10.1016/j.biotechadv.2007.05.004.
47. Sun, J. Z., Peter, K. G., Si, R. W., Zhai, D. D., Liao, Z. H., Sun, D. Z., et al. (2015). Microbial fuel cell-based biosensors for environmental monitoring: a review. *Water Sci. Technol.* 71, 801–809. doi:10.2166/wst.2015.035.
48. Gutierrez, J. C., Amaro, F., and Martin-Gonzalez, A. (2015). Heavy metal wholecell biosensors using eukaryotic microorganisms: an updated critical review. *Front. Microbiol.* 6:48. doi:10.3389/fmicb.2015.00048.
49. Scheller, F. W., Yarman, A., Bachmann, T., Hirsch, T., Kubick, S., Renneberg, R., et al. (2014). Future of biosensors: a personal view. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 140, 1–28. doi:10.1007/10_2013_251.
50. Wang, S., Poon, G. M., and Wilson, W. D. (2015). Quantitative investigation of protein-nucleic acid interactions by biosensor surface plasmon resonance. *Methods Mol. Biol.* 1334, 313–332. doi:10.1007/978-1-4939-2877-4_20.
51. Zhang, Z., Liu, J., Qi, Z. M., and Lu, D. F. (2015). In situ study of self-assembled nanocomposite films by spectral SPR sensor. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 51, 242–247. doi:10.1016/j.msec.2015.02.026.
52. Arlett, J. L., Myers, E. B., and Roukes, M. L. (2011). Comparative advantages of mechanical biosensors. *Nat. Nanotechnol.* 6, 203–215. doi:10.1038/nnano.2011.44.

Рецензія/Peer review : 27.1.2019 р.

Надрукована/Printed :16.2.2019 р.
Рецензент: д.т.н., проф. Лупенко С.А.