

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
А В Т О М Е Т Р И Я

№ 2

1993

НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

УДК 577.15.086.83

О. Г. Сафронова, В. И. Хиченко, М. Б. Штарк
(Новосибирск)

ТКАНЕВЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ БИОСЕНСОРЫ

Анализируются основные направления исследований и применения принципиально новых биотехнических измерительных устройств — биосенсоров, место их в медицинской, сельскохозяйственной и экологической практике.

Биосенсоры — аналитические устройства, конструктивно состоящие из двух блоков: биологического, включающего ферменты или антитела, целые клетки либо их органеллы, срезы тканей и т. п., и технического (трансдуктора), в который входит датчик для регистрации сравнительно небольшого числа физических величин (температуры, интенсивности светового потока, электрического тока или потенциала) или концентрации простых химических соединений (кислорода, углекислого газа, аммиака). На входе первого блока протекает специфическая биологическая реакция, а на выходе формируется сигнал, который преобразуется трансдуктором в физически измеряемую величину [1, 2].

В современной литературе тип биосенсора определяется либо биологическим материалом, используемым для определения концентрации аналита, либо применяемым трансдуктором. Так, если на поверхности трансдуктора иммобилизованы антитела или ферменты, то говорят об иммунологических или ферментативных биосенсорах, если микроорганизмы или целые клетки, то о микробных [3] или клеточных биосенсорах [4, 5]. Если же в работе сделан акцент на тип трансдуктора, то речь идет о волоконно-оптических [6], потенциометрических [7], амперометрических [8] или гравиметрических биосенсорах [9]. Количество различных типов биосенсоров как сочетание какой-либо специфической биологической системы и определенного вида трансдуктора практически не ограничено [1, 4].

В настоящее время биосенсоры применяются в медицине при диагностике ряда заболеваний и мониторинге клинических биохимических показателей в ходе лечения [10]. Спектрофотометрические и хроматографические методы, которые традиционно используются в клинике для определения органических веществ, мало пригодны для измерений в режиме "on line". Этим обусловлены интенсивные исследования и разработки биосенсоров на физиологически значимые соединения, ответ которых составлял бы минуты, а при использовании кинетических методов — секунды [3, 11]. Такие датчики можно будет применять для непрерывного контроля биохимических показателей жидких сред организма. Например, разрабатываются имплантируемые ферментные датчики на глюкозу [12], которые предполагается использовать при лечении диабета с помощью компенсаторных устройств, управляемых микропроцессорами, поддерживающих нормальную концентрацию инсулина в крови.

В сельском хозяйстве и пищевой промышленности биосенсоры используются для контроля качества продукции. Так, в [13] описан биосенсор на основе мембран тиллакоидов шпината для определения концентрации гербицидов —

атразина и диурона. Японскими исследователями разработан коммерческий вариант биосенсора для определения гипоксантина при оценке качества рыбы [14]. Описан ферментативный электрод для определения фенолов [15].

В экологии биосенсоры используются для мониторинга параметров окружающей среды. Например, в [16] представлен биосенсор для определения химического состава сточных вод. Датчик позволяет определять концентрации органических веществ в воде и детектировать наличие в среде гербицидов и мутагенов. Разработаны амперометрические микробные биосенсоры, в которых уровень загрязнения окружающей среды определяется по влиянию вредных веществ на дыхание микробной компоненты [17].

В данной работе рассматриваются тканевые биосенсоры, которые появились сравнительно недавно, однако привлекают все большее внимание исследователей простотой конструкции, низкой стоимостью, высокой каталитической активностью и сравнительно продолжительным временем жизни [4, 18—21]. При разработке такого типа биосенсоров используются данные о том, что растительные и животные ткани содержат специфические наборы ферментов, которые могут быть применены как катализаторы соответствующих химических реакций. Например, листья, цветки и плоды растений (структуры, связанные с ростом, репродукцией и накоплением питательных веществ) не только богаты каталитическими веществами, но и различаются по качественному составу [22, 23]. Для иммобилизации используют гомогенаты или срезы тканей, фиксируя их на поверхности трансдуктора. В результате ферментативной реакции, протекающей в ткани, выделяются вещества, концентрация которых определяет величину выходного сигнала трансдуктора, в качестве которого чаще всего используется газочувствительный хемосенсор.

Селективность тканевых сенсоров иногда снижается за счет присутствия в тканях не одного, а нескольких ферментов. Однако влияние «лишних» ферментов в каждом конкретном случае можно исключить или значительно ослабить подбором рН, температуры среды либо с помощью соответствующих ингибиторов и стабилизирующих компонентов ферментативной активности [19, 24]. С другой стороны, наличие в ткани разных ферментов позволяет в некоторых случаях использовать один биосенсор для измерения концентрации нескольких субстратов [25, 26].

Наряду с качественными признаками (селективностью и специфичностью), биосенсоры характеризуются и количественными параметрами [4, 9]. Величина сигнала (отклик) — разница между значением выходного сигнала биосенсора, соответствующего стационарному состоянию, завершающему переходный процесс (обусловленный ступенчатым изменением концентрации аналита в пробе), и значением сигнала до начала этого процесса.

Время отклика — время, за которое регистрируемый сигнал датчика достигает стационарного состояния. Поскольку это время трудно оценить, то в качестве динамической характеристики биосенсора (быстродействия) чаще используют время, за которое достигается 95 или 63 % максимального ответа при ступенчатом смещении концентрации аналита в растворе.

Время жизни — время, в течение которого возможно обнаружение биологически активного вещества в заданном диапазоне концентраций. Чувствительность биосенсоров со временем падает из-за деструкции биологического материала. Понятно, что этот параметр зависит от условий хранения датчика (температуры, рН, применяемых консервантов).

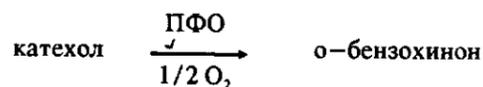
Линейный диапазон — диапазон концентраций, в котором между величиной ответа датчика y и концентрацией x существует линейная зависимость. Для линейного диапазона, как правило, находят уравнение калибровки: $y = ax + b$, где постоянные a и b определяются экспериментально и зависят от конструктивных, биологических и физико-химических параметров биологического блока и трансдуктора.

Предел обнаружения — минимальная концентрация аналита, которая с достоверностью 95 % может быть зарегистрирована биосенсором.

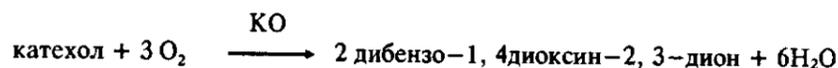
Для характеристики воспроизводимости химического анализа, проводимого с помощью биосенсора, используется относительное стандартное отклонение.

К настоящему времени разработаны тканевые биосенсоры на целый ряд веществ: мочевины [27], катехоламины [28], аминокислоты [29] и другие. Для некоторых из них описано несколько разных биосенсоров, как, например, для перекиси водорода. Чен Ли с соавторами [30] предложил амперометрический биосенсор на основе ткани листа кольраби. Гомогенат ткани с добавлением ферроцена (медиатора переноса электронов) иммобилизовался в графитовой смоле на угольном электроде. Содержащаяся в кольраби пероксидаза катализирует восстановление перекиси водорода до воды ферроценом, а образующийся на электроде (-200 мВ) феррициний вновь восстанавливается в ферроцен. Область определения концентрации перекиси водорода $4 \cdot 10^{-5} - 6 \cdot 10^{-4}$ М, время отклика 2—6 с, предел определения $8,4 \cdot 10^{-6}$ М. Биосенсор с использованием ткани винограда [31] позволяет измерять концентрацию перекиси водорода в диапазоне $1 \cdot 10^{-5} - 5 \cdot 10^{-4}$ М при времени отклика 1 мин. Еще один биосенсор на перекись водорода содержит эритроциты человека [32]. Чувствительность сенсора $1 \cdot 10^{-4}$ М, диапазон линейности $1,5 \cdot 10^{-4} - 5 \cdot 10^{-3}$ М, время жизни 2 мес. Описан также биосенсор на основе срезов ткани печени свиньи, содержащей в значительных количествах фермент разложения перекиси — каталазу [33].

Несколько тканевых биосенсоров создано и для определения концентрации катехола. Один из них включает ткань баклажана, содержащую окислительный фермент — полифенолоксидазу (ПФО) [34]. Другой сенсор основан на присутствии ПФО в картофеле [35]. Тонкий срез картофеля (100 мкм) фиксируется на кислородном электроде. Реакция

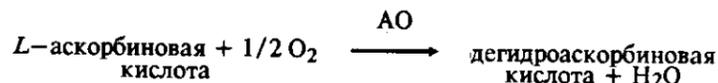


идет с потреблением кислорода. Для этого биосенсора время отклика было меньше 3 мин, линейный диапазон $2,5 \cdot 10^{-5} - 2,3 \cdot 10^{-4}$ М, время жизни 3 нед. В основе еще одного биосенсора на катехол, включающего ткань листа шпината, лежит другая химическая реакция, катализируемая ферментом катехолоксидазой (КО):



Время жизни этого биосенсора 18 дней. Диапазон линейности $2 \cdot 10^{-5} - 8 \cdot 10^{-4}$ М [36].

В работе [37] измерялась концентрация аскорбиновой кислоты с использованием срезов ткани кабачка или огурца, прикрепленных к кислородному электроду. Ткани этих овощей богаты ферментом аскорбатоксидазой (АО), которая катализирует следующую реакцию:

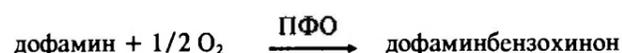


Этот сенсор не реагировал на другие органические кислоты, фенолы, аминокислоты и глюкозу. Его линейный диапазон $0,02 - 2 \cdot 10^{-3}$ М, время отклика 70—90 с. Большой чувствительностью на аскорбиновую кислоту обладает биосенсор на основе сока огурца, иммобилизованного в пористой угольной

пасте [38]. Диапазон линейности этого сенсора $2,5 \cdot 10^{-4} - 1,6 \cdot 10^{-3}$ М, а время отклика 3—6 мин.

Срез ткани кабачка, прикреплённый к поверхности амперометрического биосенсора, позволяет определять концентрацию дофамина и норэпинефрина в присутствии аскорбиновой кислоты, мешающее влияние которой в данном случае обусловлено близкими значениями окислительно-восстановительных потенциалов этих веществ. Аскорбатоксидаза кабачка элиминирует аскорбиновую кислоту с поверхности электрода [39].

Для измерения концентрации дофамина описан биосенсор, содержащий ткань банана, богатую ферментом полифенолоксидазой [40, 41]. Реакция идет с потреблением кислорода:

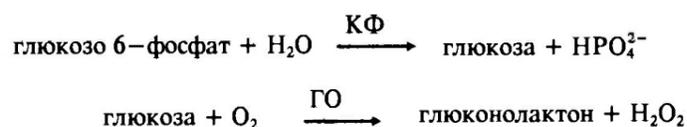


Линейный диапазон $1,3 \cdot 10^{-6} - 9 \cdot 10^{-5}$ М, время отклика 12 с, время жизни 10 дней. Сенсор позволяет проводить 60 анализов в час [41].

Биосенсор, основанный на ткани листьев огурца, был использован для измерения концентрации цистеина [42]. Реакция идет с выделением NH_3 . Время жизни сенсора 28 дней. Соевые бобы содержат фермент гидролиза мочевины уреазу. Биосенсор на их основе с аммиачным электродом служит для определения концентрации мочевины. Этот датчик выделяется среди других большим временем жизни — 94 дня [27].

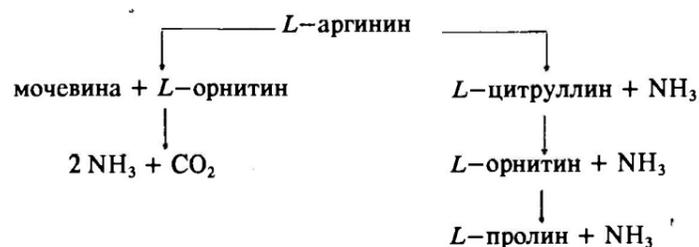
Биосенсор, содержащий срез сахарной свеклы, прикрепленный к кислородному электроду, позволяет измерять тирозин, время его жизни 8 дней [43].

Известно несколько гибридных биосенсоров, в которых кроме ткани иммобилизован еще и фермент. Так, сенсор на фосфат и флюорид включает срез картофеля, содержащий кислую фосфатазу (КФ) и иммобилизованную глюкозооксидазу (ГО) [44]. Реакция имеет две стадии:



В качестве трансдуктора используется кислородный электрод. Диапазон линейности $2,5 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4}$ М. Биосенсор позволяет провести около 300 анализов. Время жизни 28 дней.

Описан целый ряд биосенсоров, содержащих в качестве биокаталитического материала компоненты цветков растений. Так, сенсор, включающий кашлицу тычинок хризантемы, используют для измерения концентрации *L*-аргинина (до $1 \cdot 10^{-3}$ М), *L*-орнитина (до $1 \cdot 10^{-2}$ М), мочевины ($2 \cdot 10^{-5} - 3 \cdot 10^{-4}$ М). Использование срезов пестика позволяет измерять, кроме этих веществ, еще и *L*-цитруллин и *L*-пролин [23]. Очевидно, тычинки и пестик содержат ферменты [45], катализирующие соответствующие реакции:

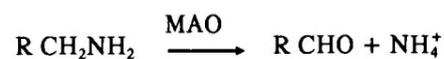


На основе ткани цветков магнолии разработан биосенсор на *L*-глутамин и *L*-аспаргин [46].

Разработан тканевый биосенсор для определения аминов — регуляторов роста растений на основе амперометрического углеродистого пастового электрода, содержащего ткань пророщенного гороха (источник диаминоксидазы) [47]. Время отклика 4 с.

Создано и описано несколько биосенсоров и на основе животных тканей. Так, в глутаминовом электроде [26] и сенсоре на глюкозамин-6 фосфат [25] используется тонкий срез (около 0,05 мм) свиной почки, а в электроде, чувствительном к 5-аденозинмонофосфату [18], — слой мышечной ткани кролика. Срез печени кролика, входящий в состав биосенсора на гуанин [19], содержит ферменты превращения гуанина в ксантин с выделением аммиака. Время отклика 2—3 мин. Диапазон линейности $1,12 \cdot 10^{-5}$ — $1,0 \cdot 10^{-4}$ М. Индикаторным электродом во всех этих биосенсорах служит аммиачный газочувствительный электрод. В биосенсоре, чувствительном к аденозину [24], применяют смесь клеток, выделенных из внешней слизистой оболочки тонкой кишки мыши. Время жизни описанных сенсоров 21—30 дней.

100
Некоторые ткани животных обладают высокой активностью фермента моноаминоксидазы (МАО). В биосенсоре на основе печени крысы для определения субстратов МАО катехоламинов и индоламинов срезы толщиной 25—200 мкм, изготовленные на криомикротоме, помещаются на нейлоновую сетку. В процессе измерения они инкубируются вместе с образцом 20 мин. Затем пробы инжигируются в проточную термостатируемую ячейку с аммоний-селективным электродом для определения концентрации образовавшегося аммония:



Диапазон измерения концентрации аммония 1—10 мМ. Сенсор может быть использован в 20 измерениях в течение 20—25 дней [28].

Чешуя определенных видов рыб (например, *Labrus assifagus*) содержит специальные клетки (хроматофоры) с гранулами пигментов, которые могут быть расположены дисперсно или создавать агломераты в клетках. Степень агрегации определяется норадреналином, выделяемым симпатическим нервом, заканчивающимся в коже рыбы. Изолированная чешуя сохраняет большую чувствительность к норадреналину и другим катехоламинам в течение нескольких недель. На этой основе создан биосенсор для определения концентрации катехоламинов в плазме крови человека [48].

В работе [49] рассматривается возможность использования эпидермиса млекопитающих для создания сенсоров на определенные биогенные соединения.

Апдайк и Трейчел в [50] разработали биосенсор на антидиуретический гормон. На стеклянный натрий-селективный электрод натягивается мочевого пузыря жабы. В присутствии гормона в исследуемом растворе через стенки пузыря происходит перенос ионов натрия. Отклик натриевого электрода прямо пропорционален концентрации гормона.

Основное число исследований в области биосенсоров имеет целью создание коммерческих образцов, которые характеризовались бы длительным временем жизни и стабильностью своих основных характеристик. Однако если говорить об использовании тканевых биосенсоров в научных исследованиях, то необходимо отметить, что существует большое число направлений в области электрофизиологии, фармакологии, нейробиологии, где используются биологические тест-системы, ряд из которых можно рассматривать как тканевые биосенсоры. Так, например, еще в начале 30-х годов Фильдберг использовал в качестве теста на ацетилхолин спинную мышцу венгерской пиявки *Nirudo officinalis*. Было показано, что ацетилхолин является практически единственным веществом, обнаруживаемым в крови, которое вызывает сокращение этой мышцы [51, 52].

В пятидесятых годах был разработан препарат для исследования вкусовых рецепторов мясной мухи [53]. На вкусовые волоски, расположенные на хоботке мухи, надевалась стеклянная трубка, которая служила и для подведения тестируемых веществ к рецепторам, и одновременно являлась отводящим электродом. На основании анализа импульсной активности рецепторных клеток было установлено, что существуют два типа рецепторов: одни высоко специфичны для сахаров, а другие, менее специфичные, реагируют на соли и целый ряд веществ, не представляющих для мухи пищевой ценности. Время отклика такой системы на химический стимул составляло несколько миллисекунд.

Не так давно был разработан новый тип биосенсора на основе хеморецепторных структур, находящихся в антеннулах крабов («рецептрод») [29, 54, 55]. Выделенные усики помещались в термостатированную проточную камеру таким образом, что хемочувствительные кончики антеннул находились в протоке, а нейроны и отходящие от них аксоны были в отдельном отсеке, заполненном искусственной морской водой. Импульсная активность нервных клеток регистрировалась с помощью внеклеточного стеклянного микроэлектрода. Анализируемый раствор вводился в проток, и если в пробе содержались вещества, обладающие сродством к рецепторам, то по изменению импульсной активности нейронов можно было определить концентрацию тестируемого вещества. С помощью рецептрода, полученного из усиков голубого краба, удалось определить концентрации всех 20 аминокислот, в частности, для глутамата предел обнаружения был равен 10^{-8} М [29].

При исследовании биосенсора на основе интактных хеморецепторов из усиков гавайских крабов [55, 56] было найдено, что время отклика сенсора на триметиламин-N-оксид (маркера возможной пищи крабов) составляет миллисекунды, а диапазон измеряемых концентраций — от 10^{-6} до 10^{-12} М. Разработан также биосенсор на основе хеморецепторных структур речного рака для детектирования пирозинамида [57].

Достоинствами такого типа сенсоров являются короткое время отклика (миллисекунды), высокая специфичность и чувствительность, широкий динамический диапазон, а основным недостатком — небольшое время жизни — 8—24 ч. Однако авторы — разработчики биосенсора — полагают, что время жизни таких систем может быть увеличено до 100—250 дней [29, 58].

Анализируется возможность использования и отдельных нервных клеток в качестве первичных преобразователей при конструировании биосенсоров. Например, с помощью микроэлектродной техники исследована связь между внеклеточной концентрацией аналита и электрическими характеристиками нейронов *Limnea stagnalis*, клетками мышечных нейроblastом N—18 и NIE—115 [59].

Нервные клетки могут послужить и основой при разработке иммунологических датчиков, поскольку показано, что с помощью микроэлектродной техники, тестируя изменения электрических характеристик мембраны, можно зарегистрировать образование иммунного комплекса на поверхности клетки. Так, например, при аппликации антител, полученных к синапсомам мозга кошки, на нейроны садовой улитки происходило снижение интенсивности спонтанных разрядов, исчезала реакция на ацетилхолин, происходила деполяризация и снижение сопротивления мембраны нервной клетки [60].

При исследовании электрофизиологических эффектов антител к нервно-специфическому белку S-100 было найдено, что образование комплекса антиген — антитело на поверхности нервной клетки приводит к снижению амплитуды потенциала действия, уменьшению максимального значения входящего тока и смещению вольт-амперных характеристик каналов входящего тока в сторону деполяризации [61—63].

С помощью метода "voltage clamp" была показана зависимость развития эффектов антител от величины удерживаемого мембранного потенциала: гиперполяризация мембраны предотвращала развитие мембранотропного действия антител [61, 64]. Эти данные свидетельствуют о контроле реакции

антиген — антитело, протекающей на поверхности мембраны, электрическим полем самой мембраны.

Потенциалзависимость эффектов антител может быть использована при разработке биосенсоров на основе искусственных мембран с встроенными антителами, антигенами или ферментами. По изменению электрических характеристик таких мембран можно судить о наличии биологически активных веществ в пробах жидкости. Установленный эффект потенциалзависимости реакции антиген — антитело, возможно, позволит в таких датчиках использовать одну мембрану с несколькими типами антигенов. Антигенная конфигурация такого биодатчика, т. е. его специфичность по отношению к антителам, содержащимся в исследуемой пробе, может управляться с помощью электрического поля, создаваемого на мембране.

В последнее время рассматривается возможность использования мембранных рецепторных структур и ионных каналов при конструировании биосенсоров [65, 66]. В трансмембранный механизм передачи сигнала о связывании рецептором лиганда вовлекаются процессы с участием G-белков и ц-АМФ, приводящие к изменению проводимости ионных каналов и включению ферментативных реакций. Коэффициент усиления таких макромолекулярных систем может достигать величины 10^5 [9]. Биосенсоры на основе молекулярных рецепторных структур способны регистрировать следовые количества аналита [67]. Так, в [68] описана искусственная система, моделирующая обонятельный рецептор, которая была получена путем встраивания гомогената обонятельного эпителия крыс в липидный бислой. Чувствительность такой системы к одорантам, определяемая по среднему времени нахождения калиевого канала в открытом состоянии, составляла несколько наномолей.

Расширение сферы применения биосенсоров в настоящее время обусловлено не только высокой чувствительностью этих систем, но и тем, что биосенсор, как правило, содержит весь набор реагентов, необходимых для определения концентрации какого-либо вещества, а это позволяет свести процедуру анализа к одному этапу. Можно говорить о своего рода автоматизации определения химических параметров тестируемых образцов, поскольку структура сенсоров, создаваемых методами биотехнологии, реализует алгоритмы биохимического анализа.

Авторы глубоко признательны канд. техн. наук доценту В. А. Трушину за обсуждение данной работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Higgins I. J., Lowe C. R. Introduction to the principles and applications of biosensors // *Phil. Trans. R. Soc. Lond.*—1987.—В316, N 1176.—P 3.
2. Стародуб Н. Ф. Неэлектродные биосенсоры — новое направление в биохимической диагностике // *Биополимеры и клетка.*—1989.—5, № 1.
3. Karube I. Microbial sensor // *J. of Biotechnology.*—1990.—15, N 3.—P. 229.
4. Rechnitz G. A., Ho M. Y. Biosensors based on cell and tissue material // *Ibid.*—P. 201.
5. Corcoran C. A., Rechnitz G. A. Cell — based biosensors // *Trends Biotechnol.*—1985.—3, N 4.—P. 92.
6. Arnold M. A. Fiber-optic biosensors // *J. of Biotechnology.*—1990.—15, N 3.—P. 229.
7. Корыта И., Штулик К. Ионоселективные электроды.—М.: Мир, 1989.
8. Hendry S. P., Higgins I. J., Bannister J. V. Amperometric biosensors // *J. of Biotechnology.*—1990.—15, N 3.—P. 229.
9. Курочкин И. Н., Попов Б. Н., Чернов С. Ф. Физико-химические и физические принципы функционирования биосенсоров // *Биологические мембраны.*—1990.—7, № 10.
10. Newman A. R. The clinical chemistry laboratory of the future // *Anal. Chem.*—1990.—62, N 20.—P. 1063A.
11. Gunasingham H., Tan C. H., Aw T. C. Comparative study of first-, second- and third generation amperometric glucose enzyme electrodes in continuous-flow analysis of undiluted whole blood // *Anal. Chim. Acta.*—1990.—234, N 2.—P. 321.
12. Pickup J. C., Shaw G. W., Claremont D. J. Potentially — implantable, amperometric glucose sensors with mediated electron transfer: improving the operating stability // *Biosensors.*—1989.—4, N 2.—P. 109.

13. Purcell X., Carpentier Y., Belanger D., Fortier G. Immobilized plant thylakoid membranes as a biosensor for herbicides // *Biotechnol. Tech.*—1990.—4, N 5.—P. 363.
14. Kfrube L., Matsuoka H., Suzuki S. et al. Determination of fish freshness with an enzyme sensor system // *J. Arg. and Food Chem.*—1984.—32, N 3.—P. 314.
15. Kulys J., Schmid R. D. A sensitive enzyme electrode for phenol monitoring // *Anal. Lett.*—1990.—23, N 4.—P. 589.
16. Kindervater R., Schmid R. Biosensoren zur Analytik von Wasser und Abwasser // *Z. Wasser und Abwasser Forsch.*—1989.—22, N 2.—S. 84.
17. Gaisford W. C., Richardson N. J., Rawson D. M. Microbial biosensors for environmental monitoring // *Biochemist.*—1990.—12, N 4.—P. 11.
18. Arnold M. A., Rechnitz G. A. Tissue-based membrane electrode with high biocatalytic activity for measurement of adenosine 5-monophosphate // *Anal. Chem.*—1981.—53, N 15.—P. 1837.
19. Arnold M. A., Rechnitz G. A. Optimization of a tissue-based membrane electrode for guanine // *Anal. Chem.*—1982.—54, N 4.—P. 777.
20. Sidwell J. S., Rechnitz G. A. Progress and challenges for biosensors using plant tissue materials // *Biosensors.*—1986.—2, N 4.—P. 221.
21. Arnold M. A., Rechnitz G. A. Comparison of bacterial, mitochondrial, tissue, and enzyme biocatalysts for glutamine selective membrane electrodes // *Anal. Chem.*—1980.—52, N 8.—P. 1170.
22. *Plant Growth: Interactions with Nutrition and Environment* /Ed. by J. R. Porter and B. W. Lawlor.—Camb.: Camb. Univ. Press, 1991.
23. Uchiyama S., Rechnitz G. A. Biosensors using flowers as a catalytic material // *Anal. Lett.*—1987.—20, N 3.—P. 451.
24. Arnold M. A., Rechnitz G. A. Selectivity enhancement of a tissue-based adenosine-sensing membrane electrode // *Anal. Chem.*—1981.—53, N 3.—P. 515.
25. Ma Y. L., Rechnitz G. A. Porcine kidney tissue based membrane electrode for glycosamine-6-phosphate // *Anal. Lett.*—1985.—18, N 13.—P. 1635.
26. Rechnitz G. A., Arnold M. A., Megerhoff M. E. Bio-selective membrane electrode using tissue slices // *Nature.*—1979.—278, N 5703.—P. 466.
27. Arnold M. A., Glazier S. A. Jack bean meal as biocatalyst for urea biosensors // *Biotechnol. Lett.*—1984.—6, N 5.—P. 313.
28. Budantsev F. Yu. Biosensor for catecholamines with immobilized monoamine oxidase in tissue sections // *Anal. Chim. Acta.*—1991.—249, N 1.—P. 71.
29. Buch R. M., Rechnitz G. A. Neuronal biosensors // *Anal. Chem.*—1989.—61, N 8.—P. 533A.
30. Lu C., Shan L. M., Minori H., Rechnitz G. A. Kohlrabi-based amperometric biosensor for hydrogen peroxide measurement // *Anal. Lett.*—1991.—24, N 1.—P. 1.
31. Weiezuriga P., Lin M. S., Rechnitz G. A. Grape tissue-based electrochemical sensor for determination of hydrogen peroxide // *Anal. Chim. Acta.*—1990.—234, N 2.—P. 453.
32. Racek J., Petr R. Biosensore for determination of hydrogen peroxide based on catalase activity of human erythrocytes // *Ibid.*—239, N 11.—P. 19.
33. Mascini M., Iannello M., Palleschi G. A liver tissue-based electrochemical sensor for hydrogen peroxide // *Anal. Chim. Acta.*—1982.—138, N 1.—P. 65.
34. Navaratne A., Lim M. S., Rechnitz G. A. Eggplant-based bioamperometric sensor for the detection of catechol // *Anal. Chim. Acta.*—1990.—237, N 1.—P. 107.
35. Botre F., Mazzei F., Lanzi M. Plant-tissue electrode for the determination of catechol // *Anal. Chim. Acta.*—1991.—255, N 1.—P. 59.
36. Uchiyama S., Tamata M. A catechol electrode based on spinach leaves // *Anal. Chim. Acta.*—1988.—208, N 1.—P. 287.
37. Macholan L., Chelikova B. Plant tissue based membrane biosensor for L-ascorbic acid // *Anal. Chim. Acta.*—1986.—185.—P. 187.
38. Uchiyama S., Umetsu Y. Concentration — step amperometric sensor of L-ascorbic acid using cucumber juice // *Anal. Chim. Acta.*—1990.—255, N 1.—P. 53.
39. Wang J., Naser N., Ozsoz M. Plant tissue-based amperometric electrode for eliminating ascorbic acid interferences // *Ibid.*—234, N 2.—P. 315.
40. Sidwell J., Rechnitz G. A. "Bananatode". An electrochemical biosensor for dopamine // *Biotechnol. Lett.*—1985.—7, N 6.—P. 419.
41. Wang J., Lin M. Mixed plant tissue carbon paste bioelectrode // *Anal. Chem.*—1988.—60, N 15.—P. 1545.
42. Smit N., Rechnitz G. A. Leaf based biocatalytic membrane electrodes // *Biotechnol. Lett.*—1984.—6, N 4.—P. 209.
43. Schubert F., Wollenberger U., Scheller F. Plant tissue-based amperometric tyrosine electrode // *Biotechnol. Lett.*—1983.—5, N 4.—P. 239.

44. Schubert F., Renneberg R., Sheller F. W., Kirstein L. Plant tissue hybrid electrode for determination of phosphate and fluoride // *Anal. Chem.*—1984.—56, N 9.—P. 1677.
45. Sterwart G. R. The comparative ecophysiology of plant nitrogen metabolism // *Plant Growth: Interactions with Nutrition and Environment* / Ed. by J. R. Porter and B. W. Lawlor.—Camb.: Camb. Univ. Press, 1991.—P. 81.
46. Uchiyama S., Rechnitz G. A. Biosensors using flower petal structures // *J. Electroanal. Chem.*—1987.—222, N 1—2.—P. 343.
47. Wijesuriya D., Rechnitz G. A. Mixed carbon paste-pia seeding electrochemical sensor for measuring plant growth-regulating activity of amines // *Anal. Chim. Acta.*—1991.—243, N 3.—P. 1.
48. Elwing H., Karlsson J. O. G., Grundstrom A. L. E. et al. Fish scales as biosensors for catecholamines // *Biosensors.*—1990.—5, N 6.—P. 449.
49. Hoath S. B., Donnelly M. M., Boissy R. E. Sensory transduction and mammalian epidermis // *Ibid.*—N 5.—P. 351.
50. Updijke S., Treichel I. Antidiuretic hormone specific electrode // *Anal. Chem.*—1979.—51, N 11.—P. 1643.
51. Feldberg W. Empfindlichkeit der Zungenmuskulatur und der Zungengefasse des Hundes auf Acetylcholin // *Pflug. Arch.*—1933.—232.—P. 75.
52. Feldberg W. Der Nachweis eines Acetylcholinähnlichen Stoffes im Zungenvenenblut des Hundes bei Reizung des Nervus Lingualis // *Ibid.*—P. 88.
53. Ходгсон Э. Рецепторы вкуса // *Восприятие. Механизмы и модели.*—М.: Мир, 1974.
54. Belli S. L., Rechnitz G. A. Prototype potentiometric biosensor using intact chemoreceptor structures // *Anal. Lett.*—1986.—19, N 3—4.—P. 403.
55. Barker T. Q., Buch R. M., Rechnitz G. A. Intact chemoreceptor-based biosensors // *Biotechnol. Progr.*—1990.—6, N 6.—P. 498.
56. Buch R. M., Barker T. Q., Rechnitz G. A. Intact chemoreceptor biosensors based on Hawaiian aquatic species // *Anal. Chim. Acta.*—1991.—243, N 2.—P. 157.
57. Wijesuriya D., Rechnitz G. A. Construction and properties of a pyrazinamide — selective biosensor using chemoreceptor structures from crayfish // *Anal. Chim. Acta.*—1992.—256, N 1.—P. 39.
58. Buch R. M., Rechnitz G. A. Intact chemoreceptor-based biosensors: responses and analytical limits // *Biosensors.*—1989.—4, N 4.—P. 215.
59. Kisaalita W. S., Skeen R. S., Van Wie B. J. et al. Neuronbased sensors for biochemical quantitation // *Images 21st Century: Proc. 11th Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. and Biol. Soc., Seattle, Wash., Nov. 9—12, 1989, Pt 4/6.*—N.-Y., 1989.—P. 1124.
60. Wald F., Mazzuchelli A., Lapetina E., de Robertis E. The effect of antiserum against nerve-endings membranes from cat cerebral cortex on bioelectrical activity of mollusc neurons // *Exptl. Neurol.*—1968.—21, N 3.—P. 336.
61. Штарк М. Б. Мозгоспецифические белки (антигены) и функции нейрона.—М.: Медицина, 1985.
62. Гайнутдинов Х. Л., Хиченко В. И., Штарк М. Б. Влияние антител к нервноспецифическому белку S-100 на электрические характеристики мембран гигантских нейронов *Helix Pomatia* // *ДАН СССР.*—1977.—236, № 5.
63. Хиченко В. И. О действии антител к нервноспецифическому белку S-100 на некоторые характеристики ионных каналов мембраны нейрона // *ДАН СССР.*—1982.—264, № 3.
64. Khichenko V. I., Gainutdinov Kh. L., Shtark M. B. Membrane potential and effect of antibodies to nervous tissue // *Ann. N. Y. Acad. Sci.*—1987.—496.—P. 416.
65. Wingard L. B. What can we expect to detect // *Biotechnol. Res. and Appl. Pap. Int. Conf. "Canbiocon 1988", Montreal, Apr. 12—14, 1988.*—L., N.-Y., 1988.—P. 230.
66. Fare T. L., Ligler F. S., Seib K. D. et al. Incorporation of ion channels in polymerized membranes and fabrication of a biosensor // *Simp. Mol. Electron.-Biosensors and Biocomput.: 19th Ann. Meet., Fine Part. Soc. Div. Biotechnol., Health and Environ.*—Santa Clara, Calif., 1988.—P. 23.
67. Rowell F. Biological receptors in biosensors // *Biochem. Soc. Trans.*—1991.—19, N 1.—P. 32.
68. Vodyanov V. Olfactory sensor // *Proc. 10th Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. and Biol. Soc., New Orleans, La, Nov. 4—7, 1988, Pt 2/4.*—N.-Y., 1988.—P. 997.

Поступила в редакцию 12 февраля 1993 г.