

Biosensory mikrobiologiczne bazujące na zjawisku luminescencji

Aleksandra Kłos-Witkowska

Akademia Techniczno-Humanistyczna w Bielsku-Białej, Wydział Budowy Maszyn i Informatyki, Katedra Informatyki i Automatyki, ul. Willowa 2, 43-309 Bielsko-Biała

Streszczenie: W prezentowanej pracy została przedstawiona charakterystyka biosensorów luminescencyjnych, pokazano ich miejsce w całej rodzinie biosensorów. Opisano rolę mikroorganizmów w biosensorach opartych na luminescencji. Przedstawiono mechanizm luminescencji w bakteriach oraz przykłady genetycznie zmienionych mikroorganizmów i ich zastosowanie jako mikrobiologicznych biosensorów opartych na luminescencji. Zaprezentowano zastosowanie mikrobiologicznych biosensorów luminescencyjnych w ochronie środowiska, przemyśle spożywczym, przemyśle obronnym i medycynie, a także pokazano przykłady komercyjnie dostępnych czujników mikrobiologicznych z uwzględnieniem tych bazujących na zjawisku luminescencji.

Słowa kluczowe: biosensor, detekcja, luminescencja, analit, mikroorganizm

1. Wprowadzenie

Wraz z rosnącym tempem życia i rozwojem cywilizacyjnym rośnie zanieczyszczenie środowiska naturalnego, co bezpośrednio przekłada się na rosnące zagrożenia zdrowia i życia człowieka wywołane związkami chemicznymi o właściwościach genotoksycznych i cytotoksycznych.

Dlatego oprócz szczegółowych analiz wykonywanych w specjalistycznych laboratoriach przez wykwalifikowany personel dąży się do rozwoju łatwych w obsłudze, tanich i szybkich urządzeń do monitorowania szkodliwych substancji znajdujących się w powietrzu, wodzie pitnej, glebie czy żywności. Doskonałym rozwiązaniem wydają się być biosensory, które powszechnie stosowane są w ochronie środowiska [1–3], medycynie [4–6] przemyśle spożywczym [7–9] lub przemyśle obronnym. W całej rodzinie biosensorów można wyróżnić mikrobiologiczne biosensory bazujące na zjawisku luminescencji, które ze względu na ich dobrą czułość, szybką reakcję na zanieczyszczenie oraz szerokie spektrum temperatury i zakres pH, w których mogą pracować, są coraz częściej stosowane.

Biorąc pod uwagę wzrastającą ich atrakcyjność, na podstawie najnowszych doniesień naukowych, starano się zgłębić w prezentowanej pracy ten szczególny rodzaj czujników pokazując ich specyficzne właściwości na tle innych biosensorów. W przeglądzie literatury można znaleźć liczne prace związane z czujnikami mikrobiologicznymi, ale nie znaleziono wśród

nich takiej, która skupiałaby wyselekcjonowane informacje na temat biosensorów mikrobiologicznych bazujących na zjawisku luminescencji. Poniższa praca ma na celu zapoznanie czytelnika z luminescencyjnymi biosensorami mikrobiologicznymi. Przez ich poznanie (podanie charakterystyk, mechanizmów działania), pokazanie ich atrakcyjności oraz opis możliwych ich zastosowań, starano się wzbudzić zainteresowanie odbiorcy i przedstawić unikatowość tego typu czujników.

2. Charakterystyka biosensorów luminescencyjnych

Biosensor, według definicji IUPAC (ang. *International Union of Pure and Applied Chemistry*), to samowystarczalne zintegrowane urządzenie, dostarczające specyficznych ilościowych lub półilościowych informacji analitycznych przy użyciu składników umieszczonych w bezpośrednim kontakcie z elementem przetwarzającym [10]. Biosensor to rodzaj czujnika bazujący na procesie rozpoznawania biochemicznego/biologicznego składający się z selektywnej części receptorowej i części przetwornikowej.

W części receptorowej następuje selektywny wychwyty cząsteczki analizowanej (analitu) a proces ten jest możliwy dzięki znajdującej się w tej warstwie matrycy, na powierzchni której znajdują się receptory będące zazwyczaj niestabilnymi molekułami biologicznymi na przykład: proteinami, enzymami, kwasami nukleinowymi, antygenami, organellami komórkowymi [11]. W przypadku rozważania biosensorów mikrobiologicznych w części receptorowej zazwyczaj umieszczane są mikroorganizmy a w szczególności bakterie [12].

W części przetwornikowej następuje zamiana wyniku biologicznego oddziaływania (między molekułami receptora a analitami) na sygnał mierzalny. Wychwyty analitu na powierzchni biosensora można porównać do zamka i klucza, gdzie zamkiem jest biosensor, a w szczególności warstwa receptorowa a klu-

Autor korespondujący:

Aleksandra Kłos-Witkowska, awitkowska@ath.bielsko.pl

Artykuł recenzowany

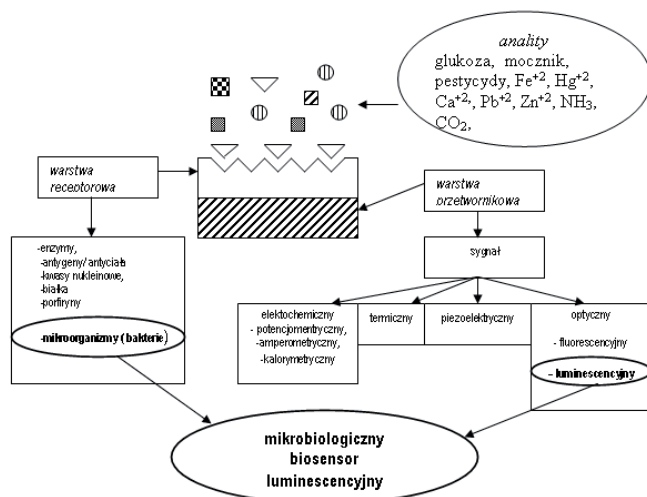
nadesłany 08.03.2017 r., przyjęty do druku 31.05.2017 r.



Zezwala się na korzystanie z artykułu na warunkach licencji Creative Commons Uznanie autorstwa 3.0

czem analit (ang. *lock-fit mechanizm*). W zależności od typu generowanego sygnału biosensory można podzielić na: biosensory elektrochemiczne (potencjometryczne, amperometryczne, kalorymetryczne), piezoelektryczne, termiczne oraz biosensory optyczne (fluorescencyjne, absorpcyjne UV-Vis i luminescencyjne) [13].

Zatem przez mikrobiologiczne biosensory luminescencyjne należy rozumieć takie biosensory, który w warstwie receptorowej zawierają mikroorganizmy (najczęściej bakterie), natomiast detekcja analitu odbywa się zgodnie ze zjawiskiem luminescencji. Innymi słowy jest to urządzenie, które wykrywa informacje związane ze zmianami fizjologicznymi i biochemicznymi mikroorganizmów [14] na skutek współdziałania ich z substancjami badanymi. Miejsce biosensorów luminescencyjnych w rodzinie wszystkich biosensorów przedstawiono na rysunku 1.



Rys. 1. Schemat budowy biosensora wraz z zasadą działania bioczuJNIka oraz miejsce mikrobiologicznego biosensora luminescencyjnego w rodzinie biosensorów

Fig. 1. Schematic diagram of the biosensor with the principle of operation of the biosensor and the place of microbial biosensor luminescent family of biosensors

3. Rola mikroorganizmów w biosensorach opartych na bioluminescencji

W konstrukcji biosensorów mikroorganizmy umieszczane są w matrycy biosensorowej. Wykorzystuje się immobilizowane mikroorganizmy oraz ich odpowiedź na substancje zanieczyszczającą. Powszechnie stosowanymi technikami immobilizacji są: techniki łapania i adsorpcji, wykorzystanie wiązań krzyżowych, kowalencyjnych lub kombinacji różnych technik. Dobór odpowiedniej techniki immobilizacyjnej zależy od reakcji, w jakiej uczestniczą bakterie podczas procesu detekcyjnego [14]. Odpowiedź biosensora na substancję zanieczyszczającą może być konsekwencją zmian fizyko-chemicznych w komórce wywołanych zmianami fizjologii lub zachowania się organizmów [12]. Ekspozycja biosensora na skażenie powoduje wymuszenie konkretnych reakcji metabolicznych w komórce i włączenie lub wyłączenie genu reporterowego [15]. Gen *lux* pochodzący z luminescencyjnych morskich bakterii *Vibrio fischeri* i *Vibrio harveyi* jest odpowiedzialny za kodowanie enzymu katalizującego reakcję, która może być w łatwy sposób monitorowana. W przypadku mikrobiologicznego biosensora luminescencyjnego najczęściej spotyka się całokomórkowe biologicznie zmodyfikowane bakterie, które reagują na toksynę przez syntezę białka reporterowego – lucyferazy [12].

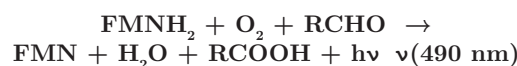
4. Mechanizm luminescencji w bakteriach

Nie wszystkie bakterie mają właściwości luminescencyjne. Grupę wyróżnioną stanowią bakterie posiadające zestaw genów *lux*. Geny odpowiedzialne za syntezę aldehydu to *luxCDE*, zaś *luxAB* – lucyferazę. Pozostałe geny *luxRI* odpowiedzialne są za regulację [14].

Powszechnie wiadomo [15], że istnieją bakterie morskie *Photobacterium phoshoreum*, *Vibria fischeri*, *Vibrio harveyi* oraz glebowe *Photorhabdus* emitujące światło. Luminescencja bakterii przebiega w warunkach tlenowych. Podstawą zjawiska bioluminescencji w bakteriach jest utlenianie lucyferyny przez enzym zwany lucyferazą.

Lucyferaza łącząc się z *flawinomononukleotydem* (FMNH₂) za pomocą tlenu (O₂) przekształca aldehyd w kwas tłuszczowy, a sama ulega wzbudzeniu przechodząc na wyższy poziom energetyczny. W wyniku takiej reakcji powstaje oksylucyferyna, która jest cząsteczką w stanie wzbudzonego, a przyścisłu jej emisja kwantu świetlnego o długości fali (490 nm), co odpowiada barwie zielono-niebieskiej.

Schemat reakcji można przedstawić następująco:



Bioluminescencja bakterii związana jest przede wszystkim z warunkami, w których się znajdują. W optymalnych dla ich funkcjonowania, na luminescencję przeznaczają mniej niż jedną dziesiątą energii pochodzącej z ich metabolizmu. W miarę zaburzenia środowiska ich funkcjonowania, na przykład przez zanieczyszczenia, następuje zmiana metabolizmu w bakteriach, a co za tym idzie spadek intensywności emisji światła. Mechanizm taki można zaobserwować w gatunkach bakterii *Vibrio fischeri* i *Vibrio harveyi* oraz *Phorhabdus* [15]. Detekcja toksycznego związku polega na zmianie intensywności emisji światła. Może być ona spowodowana modyfikacją kompozycji aminokwasów w błonie komórkowej, która wpływa na syntezę aminokwasów – nośników wewnątrzkomórkowych. Łańcuch biochemiczny zostaje zmieniony, co bezpośrednio przekłada się na zmianę intensywności świetlnej. Zmiana ta może być również konsekwencją zaburzenia produkcji energii w komórkach [16].

Tabela 1. Zastosowanie mikrobiologicznych biosensorów luminescencyjnych wraz z genetycznie zmienionymi mikroorganizmami
Table 1. The use of microbiological luminescent biosensors with genetically modified microorganisms

Mikroorganizm	Zastosowanie	Bibliografia
Escherichia coli HB101 z genami lux CDABE	wykrywanie toksyczności metali ciężkich	6
Escherichia coli genetycznie zmieniona do ekspresji luminescencji	śledzenie tempa wzrostu	21
P fluorescens HK44 z genami lux CDABE	monitorowanie procesów bioremediacji	22
Pseudomonas Purda z genami lux CDABE	identyfikacja benzenu, toluenu, etylobenzenu i xylenu	23
Escherichia coli zawierająca plazmid pGLITE kodowana Photorhabdus luminescens lux	detekcja biocydów	18

Tabela 2. Zestawienie zastosowań mikrobiologicznych biosensorów luminescencyjnych
Table 2. Summary of applications of microbial luminescent biosensors

Zastosowanie	Ochrona środowiska	Przemysł obronny	Przemysł spożywczy	Medycyna	Bibliografia
Monitorowanie toksyczności związków arsenu	×				26
Wykrywanie węgla, zapobieganie atakom bioterrorystycznym		×			30, 31
Monitorowanie toksyczności grzybów			×		28
Monitorowanie zanieczyszczeń wody	×				24, 25
Detekcja herbicydów i innych zanieczyszczeń środowiska	×				22
Detekcja markera leukemii				×	29
Detekcja toksyczności Zn, Cu, Cd	×				18
Monitorowanie unieszkodliwienia bakterii w trakcie gotowania żywność			×		27
Detekcja rtęci w glebie i w wodzie z kranu	×				23
Monitoring toksyczności wody	×				32

Istnieje jednak grupa bakterii zmodyfikowanych genetycznie. Innowacją jest zmiana ekspresji genów przez odwrócenie warunków, tzn. bakterie są zdolne do emisji światła tylko w obecności określonych związków chemicznych. Zatem emisja światła następuje tylko wtedy, gdy bakterie wykryją określony związek chemiczny. Przykładem takiego mikroorganizmu jest *Pseudomonas fluorescens* HK44 [14].

Genetycznie zmienione bakterie emitujące światło mogą być wykorzystywane do śledzenia tempa wzrostu [17], wykrywania toksyczności metali ciężkich [18], monitorowania procesów bioremediacji [19] a także identyfikacji BTEX, czyli benzenu, toluenu, etylobenzenu czy xylenu [20], mogą być również stosowane w celu detekcji biocydów. Tabela 1 przedstawia przykłady genetycznie zmienionych mikroorganizmów oraz ich zastosowanie jako mikrobiologicznych biosensorów opartych na luminescencji.

5. Wykorzystanie mikrobiologicznych biosensorów luminescencyjnych w ochronie środowiska, przemyśle spożywczym, przemyśle obronnym i medycynie

Mikrobiologiczne biosensory luminescencyjne ze względu na ich wysoką czułość, szybką reakcję biosensora na zanieczyszczenie stanowiącą krótki czas odpowiedzi, możliwość zastosowania ich w szerokim zakresie pH i temperatury, znalazły szerokie zastosowanie w ochronie środowiska, przemyśle obronnym, przemyśle spożywczym oraz w medycynie.

Biorąc pod uwagę najnowszą literaturę, największą popularność odnotowano w ochronie środowiska, gdzie za pomocą mikrobiologicznych biosensorów luminescencyjnych wykonuje się: pomiar toksyczności wody [22, 24, 25], analizę pod kątem zawartości w niej szkodliwych jonów Zn, Cu, Cd [18] czy zawartości arsenu [26]. Mikrobiologiczne sensory luminescencyjne wykorzystywane są również w przemyśle spożywczym, gdzie używane są do monitorowania zawartości szkodliwych bak-

terii w pożywieniu [27]. Przeprowadzone badania służyły do określenia zawartości bakterii podczas gotowania żywności. Ciekawe użycie mikrobiologicznych biosensorów luminescencyjnych zostało zastosowane do określenia toksyczności grzybów [28]. Ponadto czujniki te wykorzystywane są powszechnie w medycynie, gdzie zastosowano je do monitorowania markerów choroby nowotworowej [29] oraz w przemyśle obronnym w walce z bioterroryzmem, gdzie posłużyły do detekcji węgla [30, 31]. Przykładowe zestawienie zastosowań mikrobiologicznych biosensorów luminescencyjnych przedstawiono w tabeli 2.

6. Komercyjnie dostępne biosensory i biotesty mikrobiologiczne z uwzględnieniem czujników bazujących na zjawisku luminescencji

Biosensory ze względu na szerokie możliwości zastosowań oraz prostą obsługę tego typu urządzeń są czujnikami nowej generacji, których rozwój w ostatnim 20-leciu następuje bardzo dynamicznie. W dobie coraz szybszego tempa życia oraz szczególnej troski o jakość wykonywanych pomiarów, biosensory stanowią ciekawą alternatywę do powszechnie stosowanych długotrwałych metod detekcyjnych.

Czujniki te są łatwe w użyciu, a stosowanie ich nie wymaga specjalistycznego laboratorium ani wyszkolonego personelu. Z tego też względu są odpowiedzią na istniejące potrzeby i ze względu na swoją uniwersalność stanowią obszar godny uwagi z perspektywy finansowej. Na podstawie analizy ekonomicznej przeprowadzonej przez firmę Transparency Market Research szacuje się, że wartość rynku biosensorowego w 2018 r. osiągnie wielkość 18,9 biliona USD. W całej rodzinie różnego typu biosensorów należy wyróżnić biosensory mikrobiologiczne oparte na luminescencji. Ze względu na szybki czas odpowiedzi, wysoką czułość, możliwość ich stosowania w szerokim zakresie substancji monitorujących w celu wykrywania ogólnej toksyczności, określenia genotoksyczności nowo syntetyzowanych substancji chemicznych we wczesnym stadium rozwoju

farmaceutycznego, badanie ścieków przemysłowych pod kątem obecności ewentualnych związków genotoksycznych, kontrola bezpieczeństwa zaopatrzenia w wodę pitną na obecność substancji chemicznych z potencjalną genotoksycznością oraz badania mutagennych zanieczyszczeń w środowisku morskim stają się coraz bardziej powszechne.

Obecnie na rynku dostępne są różnego rodzaju testy (Microtox, Vitotox, UMU-ChromoTest, GreenScreen HC, Test Vibrio Harveyi, SoS Chromotest, Mutatox), które różnią się między sobą przede wszystkim rodzajem mikroorganizmów użytych w ich konstrukcji, co bezpośrednio przekłada się na mechanizm ich działania i zastosowanie. Przykłady komercyjnie

dostępnych czujników mikrobiologicznych z uwzględnieniem tych bazujących na zjawisku luminescencji oraz ich charakterystykę przedstawiono w tabeli 3.

Powszechnie dostępne mikrobiologiczne biosensory, w tym również biosensory bazujące na zjawisku luminescencji, stosowane są zarówno w instytutach związanych z biznesem jak i w placówkach naukowych, gdzie wykonywane są badania naukowe. W laboratoriach na całym świecie prowadzi się również zaawansowane prace nad udoskonaleniem już istniejących urządzeń w celu poprawy jakości ich detekcji oraz użyciem nowych zmodyfikowanych genetycznie mikroorganizmów.

Tabela 3. Przykłady komercyjnie dostępnych czujników mikrobiologicznych z uwzględnieniem tych bazujących na zjawisku luminescencji oraz ich charakterystyka

Table 3. Examples of commercially available microbial sensors including those based on luminescence and their characteristics

Rodzaj testu	Mikroorganizm/ organizm	Charakterystyka testu	Zastosowania	Bibliografia
Microtox	<i>V. fischeri</i> <i>V. harveyi</i>	Najczęściej stosowany i najlepiej poznany biotest wykorzystujący bakterie luminescencyjne. Narażenie użytych w teście bakterii na działanie toksycznych substancji powoduje zakłócenia ich procesu oddechowego powodując zmniejszenie ich emisji świetlnej.	Wykrywalnie ogólnej toksyczności.	35
Vitotox	<i>V. fischeri</i>	Test genotoksyczności bakteryjnej, który wykrywa uszkodzenia DNA spowodowane przez związki genotoksyczne.	Można stosować w celu określenia genotoksyczności nowo syntetyzowanych substancji chemicznych we wczesnym stadium rozwoju farmaceutycznego.	36
UMU-ChromoTest	Genetycznie zmieniona <i>Salmonella typhimurium</i>	Badanie jest oparte na indukcji genu <i>umuC</i> , który jest połączony z genem <i>lacZ</i> , odpowiedzialnym za wytwarzanie beta-galaktozydazy, (pośredniego wskaźnika uszkodzenia DNA lub genotoksyczności).	Badanie ścieków przemysłowych pod kątem obecności ewentualnych związków genotoksycznych. Projekcja wód powierzchniowych i podziemnych pod kontem pozostałości genotoksycznych. Kontrola bezpieczeństwa zaopatrzenia w wodę pitną na obecność substancji chemicznych z potencjalnej genotoksyczności.	37
GreenScreen HC	Ludzkie białko p53, linia komórkowa TK6. wykorzystanie białka GFP jako reportera właściwej regulacji genu GADD45a	Test wykrywa substancje, które są zdolne do powodowania uszkodzeń materiału genetycznego (DNA) w obrębie komórki.	Szybki test in vitro oparty na komórkach ludzkich, stosowany do oceny genotoksyczności i cytotoksyczność związków chemicznych.	38
Test Vibrio Harveyi	<i>V. harveyi</i>	W konstrukcji testu wykorzystane są zmutowane bakterie morskie <i>Vibrio harveyi</i> niezdolne do emisji światła. Pod wpływem działania mutagenu odzyskują zdolności emisyjne.	Badanie mutagennych zanieczyszczeń w środowisku morskim.	39
SOS Chromotest	<i>Escherichia coli</i> z genem <i>lac Z</i>	System reperacji SOS jest aktywowany, gdy na komórkę bakteryjną zadziałają związki uszkadzające DNA. Odpowiedź systemu SOS objawia się syntezą b-galaktozydazy.	Ocena genotoksyczności.	40
Mutatox	<i>V. fischeri</i>	Wykrycie substancji genotoksycznej powoduje uszkodzenie DNA, co odzwierciedla pomiar intensywności światła emitowanego przez bakterie.	Ocena genotoksyczności.	15

Wyniki testu zaprezentowano w pracy japońskich naukowców [26]. SOS Chromotest zastosowano do oceny toksyczności ścieków szpitalnych [33], a test Mutatox użyto do oceny genotoksyczności wody [34]. Prezentowane rezultaty wskazują na bogate spektrum zastosowań i wykorzystania tego rodzaju czujników, co bezpośrednio przyczynia się do ich popularności.

7. Podsumowanie

Śledząc w literaturze przedmiotu najnowsze trendy dotyczące rozwoju i zastosowań mikrobiologicznych sensorów luminescencyjnych można jednoznacznie stwierdzić, że zagadnienia związane z tego typu biocznymi urządzeniami rozwijają się bardzo dynamicznie. Prowadzone badania mają charakter poznawczy i są realizowane nie tylko w celu udoskonalenia już istniejących czujników, a także w celu poszukiwania nowych możliwości ich zastosowania. Chociaż istniejące urządzenia nie określają precyzyjnie chemicznego rodzaju mutagenów, to cały czas stanowią ciekawą alternatywę dla bardziej skomplikowanych metod analitycznych. Łatwość w obsłudze tego typu czujników sprawia, że mogą być stosowane przez niewykwalifikowany personel. Ponadto mogą być stosowane jako analizy uzupełniające. Rosnący ich udział w rynku sprawia, że są one atrakcyjne zarówno dla przedstawicieli biznesu, jak i nauki.

Bibliografia

- Vigneshvar S., Sudhakumari C.C., Senthilkumaran B., Prakash H., *Recent Advances in Biosensor Technology for Potential Applications – An Overview*. "Frontiers in Bioengineering Biotechnology", Vol. 4, 2016, DOI: 10.3389/fbioe.2016.00011.
- Kłos-Witkowska A., *Fluorescent biosensor based on enzyme for environmental, clinical and industry applications*. "Polish Journal of Environmental Studies", Vol. 24, 2015, 19–25, DOI: 10.15244/pjoes/28352.
- Koedrith P., Thasiphu T., Weon J., Boonprasert R., Tuitemwong K., Tuitemwong P., *Recent Trends in Rapid Environmental Monitoring of Pathogens and Toxicants: Potential of Nanoparticle-Based Biosensor and Applications*. "The Scientific World Journal", 2015, 1–12, DOI: 10.1155/2015/510982.
- Kłos-Witkowska A., *The phenomenon of fluorescence in immunosensors*. "Acta Biochimica Polonica", Vol. 63, 2016, 215–221, DOI: 10.18388/abp.2015_1231.
- Justino C., Rocha-Santos, Duarte A., *Review of analytical figures of merit of sensors and biosensors in clinical application*. "Trends in Analytical Chemistry", 29(10), 2010, 1172–1183.
- Patel S., Nanda R., Sahoo S., Mohapatra E., *Biosensors in Health Care The Milestones Achieved in Their Development towards Lab-on-Chip-Analysis*. "Biochemistry Research International". Article ID 3130469, 2016, DOI: 10.1155/2016/3130469.
- Korotkaya E., *Biosensors: design, classification and applications in food industry*. "Foods and Raw Materiale", Vol. 2 (2), 2014, 161–171.
- Luong J., Bauvrette P., Male K., *Developments and applications of biosensors in food analysis*. Trends in Biotechnology, 15 (9), 1997, 369–377.
- Adley C.C., *Past, Present and Future of Sensors in Food Production*. "Foods", Vol. 3, 2014, 491–510, DOI: 10.3390/foods303049128.
- Thevenot D., Toth K., Dust R., *Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification* (Technical Report), "Pure and Applied Chemistry", Vol. 12, 1999, 2333–2348.
- Kłos-Witkowska A., *Ewolucja i rozwój biosensorów – problemy i perspektywy*. "Pomiary Automatyka Kontrola", Nr 12, 2014, 1178–1180.
- Matejczyk M., *Potencjał aplikacyjny biosensorów mikrobiologicznych*. "Postępy Mikrobiologii", Vol. 49 (4), 2010, 297–304.
- Thakur M., Raqgawan K., *Biosensors in food processing*. "Journal of Food Science and Technology", Vol. 50(4), 2013, 625–641, DOI: 10.1007/s13197-012-0783-z.
- Błaszyk M., *Miorganizmy w ochronie środowiska*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2007.
- Pogorzelec M., Piekarska K., *Wykorzystanie bakterii bioluminescencyjnych do wykrywania substancji toksycznych i mutagennych w środowisku. Interdyscyplinarne zagadnienia w inżynierii i ochronie środowiska*. Wrocław 2013, Tom 3, 524–528.
- Turdean G.L., *Design and Development of Biosensors for the Detection of HeavyMetal Toxicity*. "International Journal of Electrochemistry", Article ID 343125, 2011, DOI: 10.4061/2011/343125.
- Marincs F., *On-line monitoring of growth of Escherichia coli in batch cultures by bioluminescence*. "Applied Microbiology and Biotechnology", Vol. 53(5), 2000, 536–541, DOI: 10.1007/s002530051653.
- Souza S.F., *Microbial biosensors*. "Biosensors & Bioelectronics", Vol. 16 (6), 2001, 337–353.
- Trögl J., Chauhan A., Ripp S., Layton A.C., Kuncová G., Sayler G.S., *Pseudomonas fluorescens HK44: Lessons Learned from a Model Whole-Cell Bioreporter with a Broad Application History*. "Sensors", Vol. 12(2), 2012, 1544–1571, DOI: 10.3390/s120201544.
- Applegate B.M., Kehrmeier S.R., Sayler G.S., *A Chromosomally Based tod-luxCDABE Whole-Cell Reporter for Benzene, Toluene, Ethylbenzene, and Xylene (BTEX) Sensing*. "Applied and Environmental Microbiology", Vol. 64 (7), 1998, 2730–2735.
- Robinson G.M., Tonks K.M., Thorn R.M., Reynolds D.M., *Application of Bacterial Bioluminescence To Assess the Efficacy of Fast-Acting Biocides*. "Antimicrobial Agents and Chemotherapy", Vol. 55(11), 2011, 5214–5219, DOI: 10.1128/AAC.00489-11.
- Shao C.Y., Howe C.J., Porter A.J.R., Glover L.A., *Novel Cyanobacterial Biosensor for Detection of Herbicides*. "Applied and Environmental Microbiology", Vol. 68, 2002, 5026–5033. DOI: 10.1128/AEM.68.10.5026–5033.2002.
- Solovyev A.I., Kostein M., Kuncowa G., Dostalek P., Rohovec J., Navratil T., *Preconcentration and detection of mercury with bioluminescent bioreporter E. coli ARL1*. "Applied Microbiology and Biotechnology", Vol. 99 (20), 2015, 8793–8802, DOI: 10.1007/s00253-015-6747-2.
- Horsburgh A.M., Mardlin D.P., Turner N.L., Henkler R., Strachan N., Glover L.A., Paton G.I., Killham K., *On-line microbial biosensing and fingerprinting of water pollutants*. "Biosensors & Bioelectronics", Vol. 17, 2002, 495–501, DOI: 10.1016/S0956-5663(01)00321-9.
- Ramiz D., Ronen A., Amit R., Belkin S., Diamand Y.S., *Modeling and measurement of a whole-cell bioluminescent biosensor based on a single photon avalanche diode*. "Biosensors & Bioelectronics" 24, 2008, 888–893, DOI: 10.1016/j.bios.2008.07.026.
- Cai J., DuBow M.S., *Use of a luminescent bacterial biosensor for biomonitoring and characterization of arsenic toxicity of chromated copper arsenate (CCA)*. "Biodegradation", Vol. 8 (2), 1997, 105–111.
- Alloush H.M., Lewis R.J., Salisbury V.C., *Bacterial Bioluminescent Biosensors: Applications in Food and Environmental Monitoring*. "Analytical Letters", Vol. 39, 2006, DOI: 10.1080/00032710600713172.

28. Hollis R.P., Kilham K., Glover L.A., *Design and Application of a Biosensor for Monitoring Toxicity of Compounds to Eukaryotes*. "Applied and Environmental Microbiology", Vol. 66(4), 2000, 1676–1679.
29. Habib M., Anderson A.E., Martin A.D., Ruddock M.W., Angell J.E., Hill P.J., Mehta P., Smith M.A., Smith J.G., Salisbury V.C., *A Bioluminescent Microbial Biosensor for In Vitro Pretreatment Assessment of Cytarabine Efficacy in Leukemia*. "Clinical Chemistry", Vol. 56(12), 2010, 1862–1870.
30. Miller S.E., Teplensky M.H., Moghadam P.Z., Fairen-Jimenez D., *Metal-organic frameworks as biosensors for luminescence-based detection and imaging*. "Interface Focus", Vol. 6, 2016, DOI: 10.1098/rsfs.2016.0027.
31. Taylor K.M.L., Lin W., *Hybrid silica nanoparticles for luminescent spore detection*. "Journal of Materials Chemistry", Vol. 19, 2009, 6418–6422, DOI: 10.1039/B900866G.
32. Jouaneau S., Durand-Thouand M.A., Thouand G., *Design of toxicity biosensor based on Allivibrio fischeri entrapped in disposable card*. "Environmental Science and Pollution Research", Vol. 23(5), 2016, 4340–4345, DOI: 10.1007/s11256-015-4942-4.
33. Jolibois B., Guerbet M., Vassal S., *Detection of hospital wastewater genotoxicity with the SOS Chromotest and Ames fluctuation test*. "Chemosphere", Vol. 51(6), 2003, 539–543.
34. Canna-Michaelidou S., Nicolaou A., *Evaluation of the genotoxicity potential (by Mutatox(TM) test) of ten pesticides found as water pollutants in Cyprus*. "Science of the Total Environment", Vol. 193 (1), 1997, 27–35.
35. <http://www.modernwater.com>
36. <http://www.gentaur.com/toxi-vibrotox.htm>
37. <http://www.ebpi.ca>
38. <http://www.gentronix.co.uk>
39. Podgórska B., Węgrzyn G., *A modified Vibrio harveyi mutagenicity assay based on bioluminescence induction*. "Letters in Applied Microbiology", Vol. 42 (6), 2006, 578–582.
40. <http://www.zbs.wum.edu.pl>

Microbiological Biosensors Based on Luminescence

Abstract: In this paper microbiological biosensors based on luminescence were presented, showing their place in the whole family of biosensors. The role of microorganisms in biosensors based on luminescence have been described. The mechanism of luminescence in bacteria and examples of genetically engineered microorganisms, their use as a microbial biosensors based on luminescence has been shown. The use of microbiological luminescent biosensors in: environmental protection, food industry, defense industry and medicine, as well as examples of commercially available microbiological sensors including those based on luminescence phenomenon have been shown. In reviewing the literature, there are numerous work-related microbiological biosensors, but not found among them the manuscript which present selected information on the microbial biosensors based on luminescence phenomenon. Novelty of this study is to provide the selected information on the microbial biosensors based on luminescence and the presentation of their latest applications.

Keywords: biosensor detection, luminescence

dr Aleksandra Kłos-Witkowska

awitkowska@ath.bielsko.pl

Adiunkt w Katedrze Informatyki i Automatyki na Wydziale Budowy Maszyn i Informatyki Akademii Techniczno-Humanistycznej. Zainteresowania naukowe: sensory i biosensory.

