

УДК 623.958:602.6:579.22-046.45

[https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-1\(35\)-848-858](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-1(35)-848-858)

Войцеховський Валерій Григорович доктор медичних наук, професор, Національний медичний університет імені О.О.Богомольця МОЗ України, Бульвар Тараса Шевченка 13, м. Київ, 01601, тел.: (044) 454-49-99, <https://orcid.org/0000-0003-3808-6279>

Міщенко Веніамін Андрійович науковий співробітник, Національний медичний університет імені О.О.Богомольця МОЗ України, Бульвар Тараса Шевченка 13, м. Київ, 01601, тел.: (044) 454-49-99, <https://orcid.org/0009-0004-6488-4391>

РОЗМІНУВАННЯ ТЕРИТОРІЙ З ВИКОРИСТАННЯМ МІКРООРГАНІЗМІВ-БІОРЕПОРТЕРІВ

Анотація. В роботі представлені результати досліджень, які стосуються розробки методів ефективного та безпечного використання пристроїв з мікроорганізмами, наділені генно-інженерними методами властивостями дистанційно виявляти та сигналізувати, як біорепортери, про міни, що в мінімальній кількості містять сучасну широко розповсюджену вибухонебезпечну речовину тринітротолуол (ТНТ).

Коротко описано історію використання вибухових пристроїв, їх пошук та знешкодження, актуальність даної теми від її початку наприкінці 19 століття, а потім у 20-ому та 21-ому століттях під час Першої та Другої світових війн і значної кількості інших військових конфліктів в різних країнах світу. Вказано на те, що розмінування замінованих територій стало важливою проблемою і загрожує гуманітарній безпеці на різних континентах. Відзначено, що в останні роки дане питання стало найбільш актуальним у населення України. Все це потребує необхідності розмінування значних територій, роботи досвідченого персоналу, спеціального обладнання та інших заходів.

Метою даної роботи стало дослідження нетрадиційних, безпечних для людей методів та технологій ефективного розмінування замінованих територій, заснованих на використанні мікроорганізмів-біорепортерів, що мають властивість подавати сигнал про місце знаходження мінімальної кількості найбільш розповсюджених вибухових речовин динітротолуолу та тринітротолуолу (ДНТ та ТНТ).

Відзначено, що для створення мікроорганізмів-біорепортерів, які здатні подавати сигнали на спеціальні прилади про контакт з випаровуваннями ДНТ та ТНТ використовуються генно-інженерні методи, знання про генетичну



детермінацію явища люмінесценції, її механізм, фізико-хімічні властивості ДНТ та ТНТ. Також в роботі зазначені ті потреби, які перш за все необхідно вирішувати для ефективного та безпечного видалення вибухових пристроїв у місцях їх розташування, а саме, вихід на заміновані території, точне встановлення мість їх розташування, створення комерціалізованих дистанційно працюючих приладів.

Ключові слова: вибухові пристрої, міни, розмінування, *Escherichia coli*, люмінесценція, біорепортери.

Voytsekhovsky Valery Hryhorovych Doctor of Medical Sciences, Professor, National Medical University named after O.O. Bohomolets, Ministry of Health of Ukraine, 13 Taras Shevchenko Boulevard, Kyiv, 01601, tel.: (044) 454-49-99, <https://orcid.org/0000-0003-3808-6279>

Mishchenko Veniamin Andriyovych Researcher, O.O. Bogomolets National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, 13 Taras Shevchenko Boulevard, Kyiv, 01601, tel.: (044) 454-49-99, <https://orcid.org/0009-0004-6488-4391>

DEMINEING OF TERRITORIES USING BIOREPORTER MICROORGANISMS

Abstract. The paper presents the results of research related to the development of methods for the effective and safe use of devices with microorganisms, endowed with genetic engineering methods with the properties to remotely detect and signal, as bioreporters, about landmines that contain a minimal amount of modern widespread explosive substances trinitrotoluene (TNT).

The history of the use of explosive devices, their search and disposal, the relevance of this topic from its beginning at the end of the 19th century, and then in the 20th and 21st centuries during the First and Second World Wars and a significant number of other military conflicts in different countries of the world are briefly described. It is pointed out that the clearing of mined areas has become an important problem and threatens humanitarian security on different continents. It was noted that in recent years this issue has become the most relevant among the population of Ukraine. All this requires the need for demining large areas, the work of experienced personnel, special equipment and other measures.

The purpose of this work was to research non-traditional, human-safe methods and technologies for effective demining of mined areas, based on the use of bioreporter microorganisms, which have the ability to signal the location of the minimum amount of the most widespread explosive substances trinitrotoluene (TNT).



It is noted that genetic engineering methods, knowledge of the genetic determination of the phenomenon of luminescence, its mechanism, and physicochemical properties of TNT are used to create bioreporter microorganisms capable of sending signals to special devices about contact with TNT vapors. Also, the work specifies those needs that, first of all, must be solved for the effective and safe removal of explosive devices in their locations, namely, access to mined areas, accurate location of their locations, creation of commercialized remotely operated devices.

Keywords: explosive devices, mines, demining, *Escherichia coli*, luminescence, bioreporters.

Постановка проблеми. Впродовж останніх років, і особливо з 2022 року, в Україні широко обговорюються проблеми, пов'язані з необхідністю розмінування значної кількості квадратних кілометрів території. Такі дії потребують роботи спеціально навченого військового персоналу, обладнання, часу та інших ресурсів.

Розпорошення протипіхотних мін, яке почалося в кінці 19 століття, а потім під час Першої та Другої світових війн та великої кількості інших військових конфліктів, стало у 20-ому та у 21-ому століттях колосальною проблемою і створює значну загрозу гуманітарній безпеці в усьому світі. В останні роки це найбільш відчуває населення України.

Найважливішою перешкодою ефективного та безпечного видалення вибухових пристроїв, серед яких найбільш поширені протипіхотні міни, є, по-перше, необхідність визначення їх точного розташування, що потребує виходу людей на заміновані території, а, по-друге, ще не існує значно поширеної комерціалізованої технології для ефективного автономного, перш за все дистанційного, виявлення наземних мін.

У цій статті проаналізовані методи створення та використання індикаторних пристроїв, які дозволяють з використанням особливих мікроорганізмів виявляти, а потім і знешкоджувати міни протипіхотного та іншого призначення.

Один із варіантів успішного вирішення вище вказаної проблеми полягає в тому, що використовують штами живих бактерій, які методами генної інженерії наділені властивостями дистанційно виявляти та сигналізувати, як біорепортери, міни, що в мінімальній кількості містять сучасну розповсюджену вибухонебезпечну речовину тринітротолуол (ТНТ).

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Важливі аспекти формування та розвитку технологій ефективного дистанційного виявлення наземних мін з використанням мікроорганізмів висвітлені в основному в публікаціях зарубіжних авторів, таких як Yagur-Krol S., Lalush K., Rosen R., Bachar N., Mosko-vitz Y. and Belkin S. (2014), Shemer, B., Haza K., Belkin S. (2018) та



інших, в яких розглянуті такі питання, як характеристика та властивості динітротолуолу і тринітротолуолу, механізм біолюмінесценції у мікроорганізмів, біорепо́ртери з використанням живих бактеріальних клітин, які були наділені, з використанням генно-інженерних методів, властивостями виробляти вимірювальний сигнал (біолюмінесценцію) при контакті з сучасними вибухонебезпечними речовинами.

Мета статті – дослідження методів розробки технології ефективного дистанційного виявлення наземних мін з використанням мікроорганізмів, у яких генно-інженерними методами створили властивість сигналізувати, як біорепо́ртери, люмінесценцією при контакті з мінімальними кількостями випаровувань широко розповсюдженої вибухонебезпечної речовини тринітротолуолу.

Виклад основного матеріалу. В теперішній час проблема розмінування замінованих територій надзвичайно актуальна. Міни після завершення бойових дій продовжують лежати невиявленими десятки років, несучи при цьому загрозу безпеці людей і тварин на значних площах полів та лісів. Так, наприклад, на західних територіях України до сих пір виявлять міни, що були закладені ще у Першу світову війну. Основною перешкодою для безпечного та ефективного видалення протипіхотних мін є точна ідентифікація щодо їхнього розташування. Ця діяльність наразі вимагає заходу саперних груп на заміновані ділянки. Саперні групи мають власноруч виявити та знешкодити небезпечні вибухові пристрої. Ризик травмування при цьому є значно високим. На розмінування одного квадратного кілометра може піти декілька тижнів чи місяців, і навіть за умови використання висококваліфікованих саперних підрозділів, розмінування значних площ може тривати десятки років. Тому така робота вимагає багато часу, а питання розмінування залишається досить актуальним і потребує значного вдосконалення.

У зв'язку з цим, більш безпечно виявляти вибухові пристрої дистанційно. На сьогоднішній день існують комерціалізовані технології для ефективного дистанційного виявлення наземних мін, але їх використання є дороговартісним, а також потребує спеціальних пристроїв, навичок у застосуванні та часу. Отже, виявлення та нейтралізація наземних мін частіше вимагає присутності людей на мінному полі та є процедурою досить небезпечною для їх життя. Саме тому намагання зробити розмінування більш безпечним вже більше як 100 років залишається надзвичайно актуальною темою.

Завдяки сучасним науковим досягненням у мікробіології та молекулярній біології створені принципово нові методи виявлення вибухонебезпечних пристроїв. Вони засновані на досягненнях вчених у генній інженерії, а саме, переносу генів від одного організму до іншого, і, таким чином, створення живих істот з новими властивостями, в тому числі вмінням розпізнавати міни та помічати місця їх розташування.



Найбільш поширеною вибуховою речовиною для протипіхотних мін є 2,4,6-тринітротолуол (тротил, або ТНТ). Динітротолуол (ДНТ), або динітро — це кристалічно тверда речовина, блідо-жовтого кольору, є органічною сполукою з формулою $C_7H_6N_2O_4$. Ця речовина виробляється як попередник толуолдіізоціанату (використовується у виробництві пінополіуретану, гуми, ізоляційної фарби та клеїв.), а також добре відома як попередник тринітротолуолу [1,2]. Тротил, чи більш точно 2,4,6-тринітротолуолу, або за його переважною назвою згідно IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC), а у перекладі-Міжнародний союз фундаментальної та прикладної хімії, до складу якого входять національні хімічні спільноти, це хімічна сполука з формулою 2-метил-1,3,5-тринітробензолу ($C_6H_2(NO_2)_3CH_3$). Тротил найбільш відомий як вибуховий матеріал із зручними властивостями для створення різних вибухових пристроїв, а також він використовується як один із компонентів у хімічному синтезі деяких речовин. Вибухова потужність тротилу вимірюється в тротиловому еквіваленті (енергія в Дж, що утворюється при вибуху 1 кг тротилу).

Мікроорганізми, які здатні реагувати вимірювальними сигналами при контакті з випарюваннями вище наведених вибухонебезпечних речовин в певній концентрації вводили (інкапсулювали) Са-альгінатні кульки, і з успіхом використовували для виявлення протипіхотних мін. У зв'язку з цим, далі варто зробити кілька пояснень, які стосуються таких явищ і процесів як люмінесценція, біорефертери та генна інженерія, без використання яких було б неможливо створити методи виявлення мін з використанням мікроорганізмів-біорефертерів, та визначення місця їх розташування.

Явище люмінесценції, а точніше в даному випадку біолюмінесценції було описано ще Арістотелем (384-322 рр. до н.е.) [3]. Здатність до світіння характерна для деяких аеробних бактерій різної морфології та різних видів. Бактерії, які світяться, знаходяться переважно у морських та річкових водах. Вони спричиняють світіння луски риб, дрібних ракоподібних, що можна побачити вночі на березі водоймищ [4,5,6,7].

Здатність до світіння можна відтворити у особливих генномодифікованих бактерій, завдяки чому вони стають чутливими до певних речовин, взаємодія з якими буде запускати механізм транскрипції (зчитування) інформації та синтезу протеїнів, які будуть сигналізувати про дану речовину. Способи сигналізації залежать від модифікацій бактерій.

Реакції люмінесценції забезпечують ферменти люциферази. Це клас ферментів, що каталізують реакції випромінювання світла. Такі ферменти містять різні організми, а перш за все – бактерії та деякі інші. Явище випромінювання світла живими істотами під дією ферменту люциферази одержало назву біолюмінесценції [8].

За утворення ферменту люциферази у бактерій відповідають гени біолюмінесценції, або lux гени. У бактерій є п'ять типів таких генів: luxA, luxB,



luxC, luxD і luxE. Їхні комбінації визначають біоломінесцентні властивості біореporterів, що будуть давати сигнал про ту чи іншу речовину, з якою вони стикаються. Таким чином можна отримувати різні біореporterи для різних завдань комбінуючи гени lux. Біореporterи будуть випромінювати синьо-зелене (з середньою довжиною хвилі - 490 нм) світло при реакції на певну речовину [9].

Механізм світіння пов'язаний із вивільненням енергії збуджених електронів у процесі біологічного окислення різних субстратів даними бактеріями. Отже, окислювальні реакції у світних мікроорганізмів каталізуються ферментом люциферазою, що призводить до подразнення молекул жироподібного субстрату (люциферину), який представлений аліфатичними альдегідами. Крім люциферину, в процесі світіння беруть участь кисень та відновлений флавінмононуклеотид [10].

Візуалізація біоломінесценції на досліджуваній замінованій ділянці відбувалася за допомогою комп'ютерного сканування із використанням спеціальних оптичних приладів – люменометрів, якими можна вимірювати інтенсивність світла. Але основою проблемою була недостатня життєздатність бактерій у альгінатних кульках. Під час їхнього існування флюоресценція не завжди досягала достатнього рівня для її якісної фіксації комп'ютером. У зв'язку з цим виникало дві проблеми. Перша - необхідно покращити умови існування бактерій в кульках для подовження часу їх життя, і друга - треба щоб біореporter продукував люмінесцентні реакції з достатньою інтенсивністю для їх фіксації відповідними приладами [11].

До біореporterів, таким чином, відносять живі бактеріальні клітини, які були сконструйовані з використанням генно-інженерних методів, для вироблення вимірювального сигналу у відповідь на певний хімічний або фізичний чинник у своєму оточенні.

Генна інженерія, як відомо, це сучасна біотехнологія, яка передбачає використання сукупності методів, прийомів і технологій для одержання рекомбінантних нуклеїнових кислот (ДНК і РНК), виділення генів із різних клітин, здійснення маніпуляцій з генами і введення їх в геноми клітини інших організмів. Все почалося у 1944 році, коли Ейвері, Мак Леод і Мак Карті встановили, що речовиною, яка визначає спадковість у майже всіх живих істот є дезоксирибонуклеїнова кислота (ДНК), і лише у вірусів цією речовиною може бути рибонуклеїнова кислота (РНК). Далі в 1953 році Джеймс Уотсон і Френсіс Крік визначили деякі важливі особливості структури молекули ДНК, а саме, що вона є подвійною спіраллю. Завдяки роботам інших вчених у 1961-1966 роках був розшифрований генетичний код, тобто принцип запису в ДНК і РНК послідовності амінокислот у майбутніх, *de novo* утворених білках, так званий триплетний код. Пропускаючи інші видатні події в історії розвитку генної інженерії, а саме, створення американською біотехнологічною компанією



«Genentech» реконбінатного інсуліну, виробленого завдяки людським генам, введеним в бактеріальну клітину (1978), розробка автоматичних синтезаторів ДНК (1981), методу полімеразної ланцюгової реакції (1985-1988), одержання трансгенних рослин транснаціональною корпорацією «Monsanto» (помідори, кукурудзи, сої та інших)(1983), та, з рештою, розшифровка геному людини і створення генетичної карти хромосоми 1, яка була останньою із не повністю секвенованих людських хромосом (2006) та багато інших, слід зазначити, про що свідчить наукова та практична діяльності вчених та лікарів, що генна інженерія є потенційним підходом до редагування генів, зміни у людини геному для лікування генетичних захворювань, вірусної, онкологічної та іншої патології [12,13,14,15,16,17].

Отже генна інженерія ґрунтується на молекулярній біології, яка дає можливість вносити зміни в молекулярну взаємодію основних біологічних молекул у клітинах. Біологи оволоділи методами, які дають можливість маніпулювати молекулами біополімерів, змінювати та досліджувати їхню структуру. За рахунок змін в молекулах нуклеїнових кислот з'явилася можливість створювати варіанти живих систем, які мають властивості, що не виникають в результаті природної еволюції.

Таким чином, генно-інженерні штами *Escherichia coli*, що здатні реагувати при контакті з вибухонебезпечними речовинами, інкапсулювали у гідрогелеві кульки для оптимізації їхнього розсіювання на мінному полі. Крім того, з метою зберігання та покращення умов життя мікроорганізмів до складу гідрогельових кульок додавали 2% альгінату (альгінат є полісахаридом, який отримують із деяких видів бурих морських водоростей) та 1% поліакрилової кислоти (поліакрилова кислота забезпечує стабільність форми гідрогелевих кульок та гелеподібну консистенцію). Використовуючи кульки із кишковими паличками вдавалося досить швидко (до однієї доби), дистанційно, масово та успішно виявляти місця розташування вибухових пристроїв [18,19].

Як було вище вказано, люмінесценцію виявляли з використанням спеціальних приладів, які здатні фіксувати світлові хвилі. Такі прилади називаються люмінометрами. Вони пристосовані до розпізнавання саме люмінесцентного світла і завдяки ним можна розпізнавати люмінесценцію у досліджуваних мікроорганізмів. Також ці пристрої мають програмне забезпечення, що дозволяє їхнє використання разом з іншими обчислювальними приладами (комп'ютерами) та програмами, які значно покращують якість проведених досліджень.

З цією метою Burlage R.S. та ін. запропонували використовувати генетично змінені мікроорганізми, які були б здатні, як біорепортери, при контакті з парами вибухових речовин, продукувати сигнал, який можна сприймати та аналізувати на відстані [20]. У зв'язку з цим було запропоновано кілька штамів бактерій, які були здатні продукувати навіть дозозалежний



сигнал у присутності основної вибухонебезпечної складової речовини наземних мін 2,4,6-тринітротолуолу (ТНТ) [21,22,19,24].

Пізніше Ягур-Кролл та ін. (2014) зробили повідомлення про особливий, чутливий штам *Escherichia coli*, у цитоплазмі якого знаходився плазмідний (тобто у позахромосомній ДНК) зелений флуоресцентний білок GFPmut2 злитий з промотором *uqjF* гена кишкової палички. Далі Ягур-Кролл С., а пізніше разом з Шемером Б., Хазаном К. та Белкіним С. встановили, що промотор *uqjF* активується як тротилом, так і динітротолуолом і може бути безпосередньо індукований речовиною їх розпаду, а саме - 2,4,5-тригідрокситолуолом. Що стосується промотора *uqjF*, то його вдалося додатково оптимізувати, використовуючи методику спрямованої еволюції (створення білків із бажаними функціями), а далі бактерії, які одержали покращену плазмиду, інкапсулювали в Са-альгінатні гідрогелеві кульки, і з успіхом використовували для виявлення протипіхотних мін [19,18,23,24].

Висновки. Упровадження методу розмінування територій з використанням генно-модифікованих мікроорганізмів-біорепортерів інкапсульованих у Са-альгінатні гідрогелеві кульки, дозволяє досить швидко, дистанційно, масово та успішно виявляти місця розташування вибухових пристроїв. У перспективі є потреба вдосконалювати дану методику використовуючи інші штами кишкової палички, а можливо і інші види мікроорганізмів, які дадуть можливість прискорити термін визначення місць розташування мін, підвищити інтенсивність люмінесценції мікроорганізмів у кульках, що значно вплине на доступність даної методики, її поширення, та покращення її використання з метою виявлення і знешкодження протипіхотних мін.

Література:

1. National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound Summary for CID 8376, 2,4,6-Trinitrotoluene. Retrived from https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_4_6-Trinitrotoluene.
2. National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound Summary for CID 8461, 2,4-Dinitrotoluene. Retrived from https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_4-Dinitrotoluene.
3. Wikipedia contributors. (2023, December 7). Aristotle. In *Wikipedia, The Free Encyclopedia*. Retrieved from <https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Aristotle&oldid=1188776554>
4. Дроздов А., Громозова Є., Грецький І. (2015). Аналіз динаміки інтенсивності біолюмінесценції світної бактерії *Photobacterium phosphoreum*. *Біофізика*, 60,316-321.
5. Грецький І., Зелена Л., Громозова Є. (2019). Вплив радіочастотного електромагнітного випромінювання на світіння *Photobacterium phosphoreum*. *Мікробіологічний журнал* 81(6).
6. Zelena, L., Gretskey, I., & Gromozova, E. (2014). Influence of ultrahigh frequency irradiation on *Photobacterium phosphoreum luxb* gene expression. *Central European Journal of Biology*, 9(10), 1004-1010.
7. Gretskey I.A. (2014). Study of the physiological characteristics of luminous bacteria *Photobacterium phosphoreum* IMV B-7071. *Мікробіологічний журнал*, (76, No. 3), 42-47



8. King, J. M. H., DiGrazia, P. M., Applegate, B., Burlage, R., Sanseverino, J., Dunbar, P., ... & Saylor, G. A. (1990). Rapid, sensitive bioluminescent reporter technology for naphthalene exposure and biodegradation. *Science*, 249(4970), 778-781.

9. Meighen, E. A. (1994). Genetics of bacterial bioluminescence. *Annual review of genetics*, 28(1), 117-139.

10. Collier, B. B., & McShane, M. J. (2014). Temperature compensation of oxygen sensing films utilizing a dynamic dual lifetime calculation technique. *IEEE sensors journal*, 14(8), 2755-2764.

11. Shemer, B., Shpigel, E., Hazan, C., Kabessa, Y., Agranat, A. J., & Belkin, S. (2021). Detection of buried explosives with immobilized bacterial bioreporters. *Microbial biotechnology*, 14(1), 251-261.

12. Ledford, H. (2015). Cancer-fighting viruses near market: anticipated approval in Europe and the United States could spur a promising field with a chequered past. *Nature*, 526(7575), 622-624.

13. Bak, R. O., Gomez-Ospina, N., & Porteus, M. H. (2018). Gene editing on center stage. *Trends in Genetics*, 34(8), 600-611.

14. Stone, D., Niyonzima, N., & Jerome, K. R. (2016). Genome editing and the next generation of antiviral therapy. *Human genetics*, 135, 1071-1082.

15. Cross, D., & Burmester, J. K. (2006). Gene therapy for cancer treatment: past, present and future. *Clinical medicine & research*, 4(3), 218-227.

16. Maeder, M. L., & Gersbach, C. A. (2016). Genome-editing technologies for gene and cell therapy. *Molecular Therapy*, 24(3), 430-446.

17. Lu, Y., Brommer, B., Tian, X., Krishnan, A., Meer, M., Wang, C., ... & Sinclair, D. A. (2020). Reprogramming to recover youthful epigenetic information and restore vision. *Nature*, 588(7836), 124-129.

18. Belkin, S., Yagur-Kroll, S., Kabessa, Y., Korouma, V., Septon, T., Anati, Y., ... & Agranat, A. J. (2017). Remote detection of buried landmines using a bacterial sensor. *Nature biotechnology*, 35(4), 308-310.

19. Yagur-Kroll, S., Lalush, C., Rosen, R., Bachar, N., Moskovitz, Y., & Belkin, S. (2014). Escherichia coli bioreporters for the detection of 2, 4-dinitrotoluene and 2, 4, 6-trinitrotoluene. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98, 885-895.

20. Burlage, R. S., Patek, D. R., & Everman, K. R. (1999). U.S. Patent No. 5,972,638. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

21. Looger, L. L., Dwyer, M. A., Smith, J. J., & Hellinga, H. W. (2003). Computational design of receptor and sensor proteins with novel functions. *Nature*, 423(6936), 185-190.

22. Altamirano, M., García-Villada, L., Agrelo, M., Sánchez-Martín, L., Martín-Otero, L., Flores-Moya, A., ... & Costas, E. (2004). A novel approach to improve specificity of algal biosensors using wild-type and resistant mutants: an application to detect TNT. *Biosensors and bioelectronics*, 19(10), 1319-1323.

23. Davidson, M. E., Harbaugh, S. V., Chushak, Y. G., Stone, M. O., & Kelley-Loughnane, N. (2013). Development of a 2, 4-dinitrotoluene-responsive synthetic riboswitch in E. coli cells. *ACS chemical biology*, 8(1), 234-241.

24. Shemer, B., Yagur-Kroll, S., Hazan, C., & Belkin, S. (2018). Aerobic transformation of 2, 4-dinitrotoluene by Escherichia coli and its implications for the detection of trace explosives. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(4), e01729-17.

References:

1. National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound Summary for CID 8376, 2,4,6-Trinitrotoluene. Retrieved from https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_4_6-Trinitrotoluene. [In English].



2. National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound Summary for CID 8461, 2,4-Dinitrotoluene. Retrieved from https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_4-Dinitrotoluene. [In English].
3. Wikipedia contributors. (2023, December 7). Aristotle. In *Wikipedia, The Free Encyclopedia*. Retrieved from <https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Aristotle&oldid=1188776554> [In English].
4. Drozdov, A. V., Gromozova, E. N., & Gretskey, I. A. (2015). Analiz dynamiky intensyvnosti bioluminescentsii svitnoi bakterii Photobacterium phosphoreum [Analysis of the dynamics of bioluminescence intensity of luminous bacteria Photobacterium phosphoreum.] *Biofizika - Biophysics*, 60(2), 316-321. [In English].
5. Hretskyi, I., Zelena, L., & Gromozova, E. (2019). Vplyv radiochastotnoho elektromahnitnoho vyromiyuvannya na svitinnia Photobacterium phosphoreum. [Effect of Radiofrequency Electromagnetic Radiation on Photobacterium phosphoreum Luminescence.] *Mikrobiolohichnyi zhurnal - Microbiological Journal*, 81(6). [in Ukrainian].
6. Zelena, L., Gretskey, I., & Gromozova, E. (2014). Influence of ultrahigh frequency irradiation on Photobacterium phosphoreum luxB gene expression. *Central European Journal of Biology*, 9(10), 1004-1010. [In English].
7. Gretskey I.A. (2014). Study of the physiological characteristics of luminous bacteria Photobacterium phosphoreum IMV B-7071. *Mikrobiolohichnyi zhurnal - Microbiology journal*, (76, No. 3), 42-47. [In English].
8. King, J. M. H., DiGrazia, P. M., Applegate, B., Burlage, R., Sanseverino, J., Dunbar, P., & Saylor, G. A. (1990). Rapid, sensitive bioluminescent reporter technology for naphthalene exposure and biodegradation. *Science*, 249(4970), 778-781. [In English].
9. Meighen, E. A. (1994). Genetics of bacterial bioluminescence. *Annual review of genetics*, 28(1), 117-139. [In English].
10. Collier, B. B., & McShane, M. J. (2014). Temperature compensation of oxygen sensing films utilizing a dynamic dual lifetime calculation technique. *IEEE sensors journal*, 14(8), 2755-2764. [In English].
11. Shemer, B., Shpigel, E., Hazan, C., Kabessa, Y., Agranat, A. J., & Belkin, S. (2021). Detection of buried explosives with immobilized bacterial bioreporters. *Microbial biotechnology*, 14(1), 251-261. [In English].
12. Ledford, H. (2015). Cancer-fighting viruses near market: anticipated approval in Europe and the United States could spur a promising field with a chequered past. *Nature*, 526(7575), 622-624. [In English].
13. Bak, R. O., Gomez-Ospina, N., & Porteus, M. H. (2018). Gene editing on center stage. *Trends in Genetics*, 34(8), 600-611. [In English].
14. Stone, D., Niyonzima, N., & Jerome, K. R. (2016). Genome editing and the next generation of antiviral therapy. *Human genetics*, 135, 1071-1082. [In English].
15. Cross, D., & Burmester, J. K. (2006). Gene therapy for cancer treatment: past, present and future. *Clinical medicine & research*, 4(3), 218-227. [In English].
16. Maeder, M. L., & Gersbach, C. A. (2016). Genome-editing technologies for gene and cell therapy. *Molecular Therapy*, 24(3), 430-446. [In English].
17. Lu, Y., Brommer, B., Tian, X., Krishnan, A., Meer, M., Wang, C., & Sinclair, D. A. (2020). Reprogramming to recover youthful epigenetic information and restore vision. *Nature*, 588(7836), 124-129. [In English].
18. Belkin, S., Yagur-Kroll, S., Kabessa, Y., Korouma, V., Septon, T., Anati, Y., & Agranat, A. J. (2017). Remote detection of buried landmines using a bacterial sensor. *Nature biotechnology*, 35(4), 308-310. [In English].



19. Yagur-Kroll, S., Lalush, C., Rosen, R., Bachar, N., Moskovitz, Y., & Belkin, S. (2014). *Escherichia coli* bioreporters for the detection of 2,4-dinitrotoluene and 2,4,6-trinitrotoluene. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98, 885-895. [In English].
20. Burlage, R. S., Patek, D. R., & Everman, K. R. (1999). U.S. Patent No. 5,972,638. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office. [In English].
21. Looger, L. L., Dwyer, M. A., Smith, J. J., & Hellinga, H. W. (2003). Computational design of receptor and sensor proteins with novel functions. *Nature*, 423(6936), 185-190. [In English].
22. Altamirano, M., García-Villada, L., Agrelo, M., Sánchez-Martín, L., Martín-Otero, L., Flores-Moya, A., & Costas, E. (2004). A novel approach to improve specificity of algal biosensors using wild-type and resistant mutants: an application to detect TNT. *Biosensors and bioelectronics*, 19(10), 1319-1323. [In English].
23. Davidson, M. E., Harbaugh, S. V., Chushak, Y. G., Stone, M. O., & Kelley-Loughnane, N. (2013). Development of a 2, 4-dinitrotoluene-responsive synthetic riboswitch in *E. coli* cells. *ACS chemical biology*, 8(1), 234-241. [In English].
24. Shemer, B., Yagur-Kroll, S., Hazan, C., & Belkin, S. (2018). Aerobic transformation of 2, 4-dinitrotoluene by *Escherichia coli* and its implications for the detection of trace explosives. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(4), e01729-17. [In English].

