

УДК 602.1:519.85:53.082.9:616-07

А.С. Сверстюк

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

МАТЕМАТИЧНІ МОДЕЛІ КІБЕР-ФІЗИЧНИХ БІОСЕНСОРНИХ ТА ІМУНОСЕНСОРНИХ СИСТЕМ

А.С. Сверстюк. Математичне моделювання кібер-фізичних біосенсорних та імуносенсорних систем. В статті розглянуто математичні моделі кібер-фізичної біосенсорної системи для прогнозування терміну її зберігання, кібер-фізичної електрохімічної біосенсорної системи, кібер-фізичної системи для визначення рівня глюкози. Розроблено математичну модель кібер-фізичної імуносенсорної системи на гексагональній решітці, яка ґрунтується на системі диференціальних рівнянь із запізненням. Описано решітчасту модель взаємодії антиген-антитіло для гексагонального масиву імунопікселів. Представлено математичне моделювання динамічної логіки кібер-фізичної імуносенсорної системи. Проведено комп'ютерне моделювання динамічної логіки кібер-фізичної імуносенсорної системи у вигляді решітчастих зображень ймовірності зв'язків антигенів з антитілами в пікселях системи, зображення флуоресценціюючих пікселів, електричний сигнал з перетворювача, який характеризує кількість флуоресценціюючих пікселів.

Ключові слова: біосенсорна система, імуносенсорна система, кібер-фізичної система, решітчасті диференціальні рівняння, диференціальні рівняння із запізненням, диференціальні рівняння в частинних похідних

А.С. Сверстюк. Математическое моделирование кибер-физических биосенсорных и иммуносенсорных систем. В статье рассмотрены математические модели кибер-физической биосенсорной системы и для прогнозирования срока ее хранения, кибер-физической электрохимической биосенсорной системы, кибер-физической системы для определения уровня глюкозы. Разработана математическая модель кибер-физической иммуносенсорной системы на гексагональной решетке, которая основывается на системе дифференциальных уравнений с запаздыванием. Описаны решетчатую модель взаимодействия антиген-антитело для гексагонального массива иммунопикселей. Представлены математические моделирование динамической логики кибер-физической иммуносенсорной системы. Проведено компьютерное моделирование динамической логики кибер-физической иммуносенсорной системы в виде решетчатых изображений вероятности связей антигенов с антителами в пикселях системы, с отображением флуоресценциюючих пикселей, электрический сигнал с преобразователя, характеризующий количество флуоресцирующих пикселей.

Ключевые слова: биосенсор на система, иммуносенсор на система, кибер-физической систем а решетчатые дифференциальные уравнения, дифференциальные уравнения с опозданием, дифференциальные уравнения в частных производных

A.S Sverstiuk. Mathematical modeling of cyber-physical biosensor and immunosensory systems. In the article the model of mathematical cyber and physical biosensor systems for forecasting period of storage, electrochemical biosensor cyber physical systems, cyber physical system to determine glucose levels. A mathematical model of the cyber-physical immunosensory system on a hexagonal lattice based on a system of delayed differential equations was developed. The lattice model of antigen-antibody interaction for a hexagonal array of immunopixels is described. The mathematical modeling of the dynamic logic of the cyber-physical immunosensory system is presented. It was conducted to simulate the linear modeling of the dynamic logic of the cyber-physical immunosensory system in the form of lattice images of the probability of binding of antigens to antibodies in pixels of the system, with the inversion of fluorescence pixels, is the electronic signal from the converter, which characterizes the number of fluorescing pixels.

Key words: biosensor on system, immunosensor on system, cyber-physical systems, lattice differential equations, delayed differential equations, differential equations in partial derivatives

Вступ.

В останні десятиліття спостерігаємо стрімкий розвиток інформаційних технологій, який 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'язана 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 математичних моделей 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 КФСІСС, 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. Імуносенсори [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 КФСІСС, що дає змогу виконати його чисельне моделювання.

У КФСІСС фізично виміряні 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, ємнісний), оптичний, мікрогравіметричні та термометричні [3]. Усі типи сенсорів можуть використовуватися, як прямі (немарковані) або як непрямі (марковані) імуносенсори. Прямі сенсори здатні виявляти фізичні зміни під час утворення імунного комплексу, в той час як непрямі, використовують різні рівні генерованого сигналу, які дають змогу більш чутливо та універсально проводити детектування у вимірювальних системах.

КФСІСС є високоінтелектуалізованими 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 [7] КФСІСС 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, імуносенсори 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 КФСІСС 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 КФСІСС 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 CO_2 , проводять моніторинг біологічних показників людини.

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.

Розглянемо основні технічні характеристики КФБСІСС.

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 трансдьюсера.

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 одержується, 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.

Зважаючи на широкий спектр досліджень та використання кібер-фізичних моделей біосенсорних та імуносенсорних систем [14-16] розглянемо деякі з них.

2. Математичні моделі кіберфізичних біосенсорних систем на основі звичайних диференціальних рівнянь.

2.1. Динамічна модель кіберфізичної біосенсорної системи для прогнозування терміну її зберігання.

У роботі [17] розглянуто динамічну математичну модель другого порядку для прогнозування зміни ефективної роботи кіберфізичної біосенсорної системи з часом. Модель складається із зворотньої та незворотньої реакції, з коефіцієнтами швидкості, що мають температурні залежності, згідно рівняння Арреніуса. У динамічній моделі другого порядку враховується порівняння двох експериментальних наборів даних, які використовуються для оцінки та для перевірки набору даних. Отримана модель враховує прогнозування терміну придатності, проведення експериментів із прискореним тестуванням та вдосконаленням біосенсорів, а також розробкою рекомендацій, щодо їх зберігання.

Слід зазначити, що біосенсори є чутливими до вологості, підвищеної температури і концентрації кисню [18, 19]. Після складних умов зберігання, зв'язок між сировиною біосенсора та наявністю рівня аналіту, може відхилитися від калібрувальних залежностей, які

використовуються в кіберфізичних системах. Для усунення даного недоліку виконують порівняння із стандартизованими залежностями та внесенням відповідних поправок в покази біосенсорів.

Значний прогрес був досягнутий протягом останніх декількох десятиліть в стабілізації параметрів біосенсорів на основі ферментів, використовуючи відповідні методи іммобілізації [19, 20]. Хоча методи на основі ферментів розширюють термін працездатності біосенсорів, завдяки чому вони є більш комерційно цікавими та стабільними, однак існують можливості для їх покращення [19, 21], оскільки термін зберігання біосенсорів залишається важливою характеристикою при виробництві цих пристроїв.

Схожі проблеми стабільності параметрів в умовах зберігання ставляться при розробці кіберфізичних систем для медичних, фармацевтичних досліджень, вимірювання рН середовищ, вологості, рівнів освітленості та кисню [22]. Щодо термічного впливу у фармацевтичній промисловості використовується метод "середньої кінетичної температури" (СКТ), що передбачає температурну зміну активності продуктів з хімічно активними компонентами [23]. СКТ є еквівалентною додатньою температурою, яка спричиняє певну зміну активності за визначений період часу. Швидкість змін описується рівнянням Арреніуса, яке широко використовується в кінетиці хімічних реакцій:

$$k = A_0 e^{-\frac{E_a}{RT}} = k_{ref} e^{-\frac{E_a}{RT} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}} \right)} \quad (1)$$

Рівняння Арреніуса пов'язує коефіцієнт швидкості реакції k з абсолютною температурою T ; E_a – енергія активації; R – універсальна газова стала; A_0 – доекспоненційний фактор; k_{ref} – значення коефіцієнта швидкості при еталонній температурі T_{ref} (як правило, вибирається, як типова температура в межах важливих експериментальних температур) [24].

Загальноприйнято вважати динаміку першого порядку для оцінювання якості фармацевтичної продукції під час її зберігання. Це припущення використовується для розробки регуляторних стандартів, що стосуються моніторингу термінів зберігання [25], які допомагають забезпечити якість лікарських засобів.

В динамічних моделях першого порядку, які використовують рівняння Арреніуса, залежність зміна температури використовують для оцінки стійкості кіберфізичних систем [26, 27]. У роботі [26] представлено загальну модель динамічного процесу першого порядку для оцінки відповідності параметрів біосенсора при прийнятті його в експлуатацію. Цей підхід може бути наближеним до біосенсорних систем, які містять один термічно чутливий компонент, однак він може бути недостатнім для більш складних кіберфізичних систем. Термічні компоненти можуть складатися з ряду елементів, у тому числі змінні дифузійні властивості полімерних матричних шарів у сенсорі або зміні дії одного або декількох ферментів, присутніх в біосенсорній системі. Комбінація цих типів змін могла виробляти динамічну поведінку вищого порядку для оцінки стійкості КФСІСС, тому моделі першого порядку можуть неадекватно описувати такі системи. У даній роботі наведені дані термостійкості біосенсорів, які використовуються для розробки динамічних моделей для стійкості конкретного біосенсорного пристрою. Використовуючи моделі першого порядку можна стверджувати, що даний метод забезпечує неадекватне прогнозування даних, тому більш доцільним є використання динамічних моделей другого порядку.

Наведені нижче динамічні моделі першого та другого порядку являють собою лінійні моделі звичайного диференціального рівняння для фіксованої температури.

Модель, що описує зміну активності біосенсора з часом використовує динамічну модель першого порядку з врахуванням температури Арреніуса має вигляд:

$$\frac{dI_1}{dt} = -k_1 I_1 \quad (2)$$

де I_1 – реакція датчика на аналіт у контрольному зразку; t – час використання датчика, який залежить від константи швидкості k_1 (коефіцієнт зосередженої швидкості, який має залежити від температури Арреніуса). Інтегруючи рівняння (2), припускаючи температуру постійною протягом інтервалу часу з тривалістю t , отримаємо рівняння (3):

$$I_1 = I_{1_0} e^{-k_1 t} \quad (3)$$

де I_{1_0} – це відповідь біосенсора на еталонний розчин в інтервалі теплового впливу. Рівняння (3) вказує на те, що активність біосенсора, повинна відповідати експоненціальній залежності.

У моделі другого порядку поведінка старіння біосенсора апроксимується, використовуючи двостадійний процес між трьома станами:



На першому етапі термічно чутливі компоненти біосенсора в їх природньому стані переходять реверсивно до неактивного стану, позначені як В. На другому етапі компоненти в стані В здійснюють незворотній перехід до неактивного стану С. У цій схемі передбачається, що компоненти біосенсора в стані А досить ефективні для реагування біосенсора на наявність аналіту. В та С представляють стан, де компоненти біосенсора більше не генерують відповідь на аналіт, який вимірюється, або форма відповіді, сформована біосенсором, так істотно змінилася, що алгоритм для розрахунків концентрації аналіту більше не підходить. Стан В являє собою обернений модифікований стан, тоді як стан С являє собою основу модифікованого стану. Ця проста динамічна схема є наближенням складних взаємодій термічного старіння, що виникають внаслідок зміни параметрів компонентів, таких як кінетика реакції та поведінка масопереносу в біосенсорі. Механізм двоетапного старіння в рівнянні (4) є простим способом обліку складних температурно-залежних процесів, які пов'язані з рівновагою, зміною чутливості та довготривалим зменшенням активності біосенсорів. Подібні моделі кінетичного старіння для використання при прискореному тестуванні були використані для опису змін у оптоволоконних системах.

На практиці, ступінь зміни характеристик біосенсора з віком, визначається шляхом порівняння сигналів. При цьому вимірюється відгук біосенсора на тестуючий сигнал, який порівнюється із середнім значенням відповідного сигналу перед консервацією або початком експлуатації. Припускаючи, що швидкість зміни для кожного переходу в рівнянні (4) відповідає кінетиці першого порядку, динамічна поведінка системи може бути підсумована двома диференціальними рівняннями:

$$\frac{dI_A}{dt} = k_{1,rev} I_B - k_{1,fwd} I_A \quad (5)$$

$$\frac{dI_B}{dt} = k_{1,fwd} I_A - k_{1,rev} I_B - k_{2,fwd} I_B \quad (6)$$

де I_A – це біосенсорна відповідь на аналіт у контрольній вибірці; I_B – гіпотетична відповідь, яка може бути сформована з компоненти В, якщо вона повертається до А; $k_{1,fwd}$, $k_{2,fwd}$ та $k_{1,rev}$ коефіцієнтів швидкості. Використовуючи вирази Арреніуса для опису температурної залежності переходів в рівнянні (4) отримаємо:

$$k_{1,fwd} = k_{1,fwd_ref} \cdot e^{\left(\frac{-E_{k1,fwd}}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}}\right)\right)} \quad (7)$$

$$k_{1,rev} = k_{1,rev_ref} \cdot e^{\left(\frac{-E_{k1,rev}}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}}\right)\right)} \quad (8)$$

$$k_{2,fwd} = k_{2,fwd_ref} \cdot e^{\left(\frac{-E_{k2,fwd}}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}}\right)\right)} \quad (9)$$

де $E_{k1,fwd}$, $E_{k1,rev}$ та $E_{k2,fwd}$ – зосереджені енергії активації, T – абсолютна температура і k_{1,fwd_ref} , k_{1,rev_ref} і k_{2,fwd_ref} – коефіцієнти швидкості при температурі T_{ref} .

2.2. Математичні моделі кіберфізичних біосенсорних систем у вигляді диференціальних рівнянь в частинних похідних.

2.2.1. Модель кіберфізичної електрохімічної біосенсорної системи.

Електрохімічні (ЕХ) кіберфізичні клітинні біосенсорні системи інтегрують клітини, еукаріоти або прокаріоти, як біорозпізнавальні елементи з ЕХ перетворювачем, який перетворює біохімічний сигнал в електричний вимірюваний сигнал. Сигнал генерується у відповідь на концентрацію аналіту, його наявність або функціональність [28]. Ці характеристики використовуються для виявлення, скринінгу і моніторингу аналіту, що представляє інтерес, і

виявлення клітинної активності, потенційної токсичності і різних патологій клітин, що забезпечують цінність інформації для оцінки ризиків. Біосенсори на основі клітин використовуються у різних галузях, включаючи моніторинг навколишнього середовища [29-31], медичну діагностику [32], фармакологію [33-35] і харчову безпеку [36]. Використання клітини як елемента розпізнавання дозволяє зберігати активні білки в їх природному середовищі, сприяючи їхній діяльності і стабільності, самостійному виробництву всіх необхідних ферментів.

В [37] змодельовано електрохімічну клітину, інтегровану з життєздатними бактеріальними клітинами, що експресують внутрішньоклітинний фермент, який реагує на доданий субстрат, а генерований продукт секретується і окислюється на поверхні електроду. Проаналізовано вплив розподілу бактерій при порівнянні двох випадків: суспендовані клітини, що передбачають рівномірний розподіл і гомогенну реакцію та клітини, які іммобілізовані на гранулах, що прикріплені до поверхні електроду, утворюючи неоднорідну генерацію продукту у вузькій області поблизу електроду.

Модель показує, що коли загальна кількість чутливих клітин зберігається постійною, бажано розміщувати їх безпосередньо біля робочих електродів. Хоча модель є наближеною, оскільки гранули утворюють 3D-структуру, де транспорт відбувається через проміжки між кульками, 1D-модель добре пояснює основні експериментальні результати при моделюванні в COMSOL Multiphysics™. Припускаючи, що дифузія продуктів до електроду є домінуючим фактором і реакція бактерій не залежить від його іммобілізації і щільності, досліджено, що в міру того, як загальна популяція наближається до електроду, час відгуку зменшується, а довготривалий електрохімічний струм досягає того самого значення, яке залежить від загальної кількості бактеріальних клітин.

Іммобілізація клітин на поверхні перетворювача ефективно використовується при побудові КФБСІСС, оскільки вважається підвищенням чутливості, спрощенням роботи та зменшенням часу реакції. Схематичне зображення моделі наведено на рис. 1.

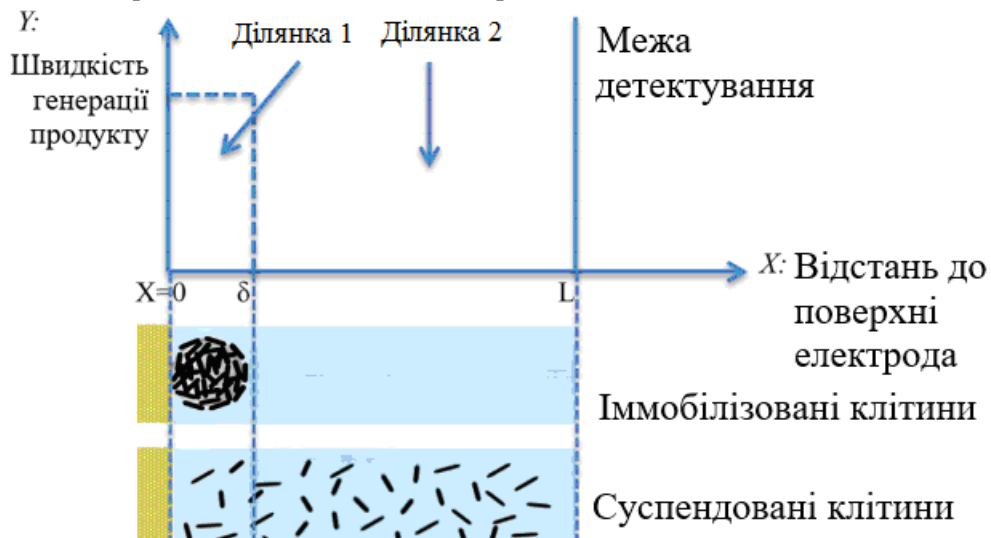


Рис.1. Схематичне зображення моделі біосенсорної системи суспендованих та іммобілізованих клітин.

Електрохімічний струм виникає за рахунок взаємодії реакції окислення на робочому електроді продукту ферментативної реакції.

Ділянка I. (на рис. 1). У разі дифузії задається лише концентрація продукту в розчині P_1 :

$$\frac{\partial P_1}{\partial t} = D_P \cdot \frac{\partial^2 P_1}{\partial x^2} + g'_P,$$

де $g'_P = g_P \frac{L}{\delta}$, а D_P – коефіцієнт дифузії продукту в електроліті.

Ділянка II. (на рис. 1). У ділянці II продукт не генерується, а переноситься завдяки дифузії з ділянки I в ділянку II і концентрація продукту в розчині задається виразом для P_2 :

$$\frac{\partial P_2}{\partial t} = D_P \cdot \frac{\partial^2 P_1}{\partial x^2}, \quad \delta \leq x \leq L.$$

Розв'язок для ділянок I та II має вигляд:

$$P_1 = \left(\frac{g'_P}{S^2} + \frac{P(0)}{S} \right) + A_1 \cdot e^{ax} + A_2 \cdot e^{-ax}$$

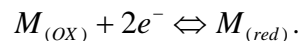
$$P_2 = \frac{P(0)}{S} + B_1 \cdot e^{ax} + B_2 \cdot e^{-ax}$$

В моделі зроблено припущення, що продукт неперервно генерується з сталою швидкістю, внаслідок взаємодії між субстратом і ферментом всередині клітин. Продукт секретується з клітини до розчину і дифузія відбувається в напрямку поверхнього електрода, де він негайно окислюється.

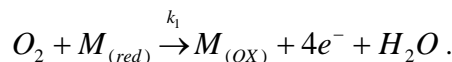
2.2. Математична модель кіберфізичної біосенсорної системи для визначення рівня глюкози.

Кіберфізичні біосенсорні системи для визначення рівня глюкози мають великий потенціал для моніторингу глюкози в процесах ферментації [38], що задовольняють потреби в розробці біотехнологічних штамів. Однак надійність реакції таких систем при неперервному моніторингу залишається обмежувальним фактором для їх подальшої інтеграції в біотехнології.

Головною метою моделі [39] було передбачити циклічні криві вольтамперометрії для зворотної електрохімічної реакції, яка пов'язаної з окисленням при відсутності субстрату (глюкози) для насиченого повітрям фосфатного буферного розчину, при різних умовах експлуатації. У просторі біосенсор моделюється як одновимірною системою. Нелінійні рівняння в частинних похідних другого порядку поєднують динамічну дифузію та реакцію залучених хімічних речовин у ферментативно-мембранному шарі, а також електрохімічну реакцію на поверхні електрода. Різні області багатшарової системи біосенсорів глюкози (поверхня електродів, шар фермен-мембрана та застійний дифузійний шар) були пов'язані з дифузійними потоками, хімічними та електрохімічними реакціями. Передбачалося, що окислена форма ($M_{(ox)}$) штучної пероксидази була осаджена на поверхні робочого електрода в якості оборотної форми ($M_{(red)}$), яка отримана під час оборотної реакції перенесення двох електронів [40]:



Повне зменшення молекулярного кисню відповідає реакції переносу чотирьох електронів в бік ферментно-мембранного шару:



Вважається, що кінетика електрохімічних реакцій є оборотною, а відновлення кисню слідує кінетиці другого порядку. Враховуючи одновимірну дифузію, сформульовані рівняння для кисню (10), окисленої (11) і редукованої (12) форм медіатора наступним чином:

$$\frac{\partial [O_2]}{\partial t} = D_{O_2,e} \frac{\partial^2 [O_2]}{\partial x^2} - r([O_2], [M_{red}]) \quad (10)$$

$$\frac{\partial [M_{ox}]}{\partial t} = D_{M_{ox},e} \frac{\partial^2 [M_{ox}]}{\partial x^2} + r([O_2], [M_{red}]) \quad (11)$$

$$\frac{\partial [M_{red}]}{\partial t} = D_{M_{red},e} \frac{\partial^2 [M_{red}]}{\partial x^2} - r([O_2], [M_{red}]) \quad (12)$$

Для дифузійного шару $t > 0$ і $d_e < x < d_e + d_d$:

$$\frac{\partial [O_2]}{\partial t} = D_{O_2,d} \frac{\partial^2 [O_2]}{\partial x^2}, \quad (13)$$

де $D_{O_2,e}$ і $D_{O_2,d}$ – коефіцієнти дифузії для кисню всередині фермент-мембранного та дифузійного шарів. Всередині фермент-мембранного шару, $D_{M_{red},e}$ і $D_{M_{ox},e}$ – коефіцієнти дифузії відновленої і окисленої форми медіатора. d_e – товщина ферментно-мембранного шару, d_d – товщина дифузійного шару.

шару. Швидкість (r) гомогенної реакції між відновленою формою медіатора і кисню забезпечується наступною рівністю:

$$r([O_2], [M_{red}]) = k_1 \cdot [O_2] \cdot [M_{red}] \quad (14)$$

де k_1 – кінетична стала для повного окислення заумови наявності кисню для насичених повітрям розчинів.

3. Математична модель кібер-фізичної імуносенсорної системи на гексагональній решітці, яка ґрунтується на системі диференціальних рівнянь із запізненням.

3.1. Решітчаста модель взаємодії антиген-антитіло для гексагонального масиву імунопікселів.

В роботі [41] побудовано математичну модель імуносенсора в класі диференціальних рівнянь із запізненням на гексагональній решітці і отримано умови стійкості її ендемічного стану рівноваги.

Розглянуто модель імуносенсора на основі гексагональної решітки. При цьому для нумерації імунопікселів (i, j, k) , $i, j, k = \overline{-N, N}$, $i + j + k = 0$ використовується кубічна система координат [42].

Нехай $V_{i,j,k}(t)$ – концентрація антигенів, $F_{i,j,k}(t)$ – концентрація антитіл в імунопікселі (i, j, k) ; $i, j, k = \overline{-N, N}$, $i + j + k = 0$.

Модель ґрунтується на таких біологічних припущеннях для довільного імунопікселя (i, j, k) .

1. Маємо деяку константу народжуваності $\beta > 0$ для популяції антигенів.
2. Антигени нейтралізує антитілами з деякою ймовірнісною швидкістю $\gamma > 0$.
3. Популяція антигенів прагне до деякої межі насичення зі швидкістю $\delta_v > 0$.
4. Маємо деяку дифузію антигенів з шести сусідніх пікселів $(i+1, j, k-1)$, $(i+1, j-1, k)$, $(i, j-1, k+1)$, $(i-1, j, k+1)$, $(i-1, j+1, k)$, $(i, j+1, k-1)$, (Рис. 2) із швидкістю дифузії $D\Delta^{-2}$, где $D > 0$ і $\Delta > 0$ є відстанню між пікселями.
5. Маємо деяку постійну смертності антитіл $\mu_f > 0$.
6. В результаті імунної відповіді збільшується щільність антитіл з ймовірнісною швидкістю $\eta\gamma$.

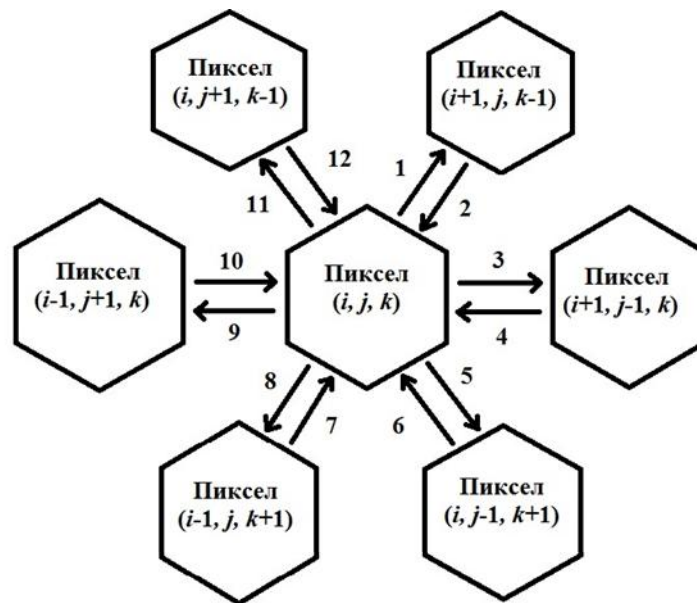


Рис. 2. Гексагональна решітка, яка пов'язує шість сусідніх пікселів в моделі з використанням кубічних координат

$$1, 3, 5, 8, 9, 11 \left(\frac{D}{\Delta^2} v_{i,j,k}(t) \right); 2 \left(\frac{D}{\Delta^2} v_{i+1,j,k-1}(t) \right); 4 \left(\frac{D}{\Delta^2} v_{i+1,j-1,k}(t) \right);$$

$$6 - \left(\frac{D}{\Delta^2} v_{i,j-1,k+1}(t) \right); 7 - \left(\frac{D}{\Delta^2} v_{i-1,j,k+1}(t) \right); 10 - \left(\frac{D}{\Delta^2} v_{i-1,j+1,k}(t) \right); 12 - \left(\frac{D}{\Delta^2} v_{i,j+1,k-1}(t) \right).$$

7. Популяція антитіл прагне до деякого рівня насичення зі швидкістю $\delta_f > 0$.

8. Імунна відповідь настає з деякою постійною затримкою в часі $\tau > 0$.

На основі цього розглянуто дуже просту конструкцію моделі антиген-антитіло із запізненням для гексагонального масиву імунопікселів, яка ґрунтується на добре відомій моделі Марчука [43, 44] і використовує просторовий оператор \hat{S} , запропонований в [45].

$$\begin{aligned} \frac{dV_{i,j,k}(t)}{dt} &= (\beta - \gamma F_{i,j,k}(t - \tau)) - \delta_v V_{i,j,k}(t - \tau) V_{i,j,k}(t) + \hat{S}\{V_{i,j,k}\} \\ \frac{dF_{i,j,k}(t)}{dt} &= (-\mu_f + \eta \gamma V_{i,j,k}(t - \tau) - \delta_f F_{i,j,k}(t)) F_{i,j,k}(t) \end{aligned} \quad (15)$$

Модель (15) задана початковими функціями (16):

$$\begin{aligned} V_{i,j,k}(t) = V_{i,j,k}^0(t) \geq 0, \quad F_{i,j,k}(t) = F_{i,j,k}^0(t) \geq 0, \quad t \in [-\tau, 0), \\ V_{i,j,k}(0), \quad F_{i,j,k}(0) > 0. \end{aligned} \quad (16)$$

Для гексагонального масиву використовується дискретна дифузія для просторового оператора.

$$\hat{S}\{V_{i,j,k}\} = \begin{cases} D\Delta^{-2} [V_{i+1,j,k-1} + V_{i+1,j-1,k} + V_{i,j-1,k+1} + V_{i-1,j,k+1} + V_{i-1,j+1,k} + V_{i,j+1,k-1} - 6nV_{i,j,k}] \\ i, j, k \in \overline{-N+1, N-1}, \quad i + j + k = 0. \end{cases} \quad (17)$$

Кожна колонія піддається впливу антигенів, вироблених в шести сусідніх колоніях, які розділені рівними відстанями Δ .

Використовується гранична умова $V_{i,j,k} = 0$ для пікселів (i, j, k) таких, що $i \in \{-N, N\} \vee j \in \{-N, N\} \vee k \in \{-N, N\}$ і $i + j + k = 0$.

3.2. Математичне моделювання динамічної логіки кібер-фізичної імуносенсорної системи.

Для математичного моделювання динамічної логіки КФІСС використовується синтаксис, який запропонований А. Платцером для загальної КФС [4] у вигляді мови програмування ГП. У випадку КФІСС перший рівень ГП є динамічною програмою, яка визначається наступною граматиною

$$\begin{aligned} a ::= \frac{dV_{i,j,k}(t)}{dt} &= (\beta - \gamma F_{i,j,k}(t - \tau) - \delta_v V_{i,j,k}(t - \tau) V_{i,j,k}(t) + \hat{S}\{V_{i,j,k}\}), \\ \frac{dF_{i,j,k}(t)}{dt} &= (-\mu_f + \eta \gamma V_{i,j,k}(t - \tau) - \delta_f F_{i,j,k}(t)) F_{i,j,k}(t) \& \Phi_t \end{aligned} \quad (18)$$

У формулі (18) Φ_t є еволюційним доменним обмеженням у вигляді формули логіки першого порядку

$$\begin{aligned} \Phi_t &\stackrel{\text{def}}{=} V^{\min} \leq V_{i,j,k}(n) \leq V^{\max} \\ \wedge F^{\min} &\leq F_{i,j,k}(n) \leq F^{\max} \wedge i, j, k = \overline{-N, N} \wedge t > 0, \\ i + j + k &= 0 \end{aligned} \quad (19)$$

В результаті зв'язування антигенів з антитілами в імунопікселі відбувається явище флуоресценції. Функціонування імунопікселя (i, j, k) визначається двома станами. А саме, s_{fl} є станом флуоресценції та s_{nonfl} є одним із нефлуоресцентних станів.

Інтенсивність флуоресценції пропорційна кількості контактів між антигенами та антитілами, тобто $k_{fl}V_{i,j,k}(t)F_{i,j,k}(t)$. Припускається, що піксель (i, j, k) знаходиться у стані флуоресценції, якщо

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

де $\Theta_{fl} > 0$ є деяким пороговим значенням зв'язування, при якому відбувається явище флуоресценції.

Використавши в синтаксисі логіки першого порядку співвідношення задоволення $s| = L$ для формули логіки першого порядку L та стану s , можна визначити для конкретних пікселів (i, j, k) ; $i, j, k = -N, N$, $i + j + k = 0$ стани s_{fl} і s_{nonfl} , як

$$\begin{aligned} s_{fl} &| = k_{fl}V_{i,j,k}(n)F_{i,j,k}(n) \geq \Theta_{fl}, \\ s_{nonfl} &| = k_{fl}V_{i,j,k}(n)F_{i,j,k}(n) < \Theta_{fl} \end{aligned} \quad (20)$$

Дискретні зміни відбуваються в комп'ютерних програмах, коли вони приймають нові значення для змінних. Така ситуація відбувається у випадку виникнення явища флуоресценції в пікселі (i, j, k) , $i, j, k = -N, N$, $i + j + k = 0$. У стані флуоресценції змінній $s_{fl,i,j,k}$ присвоюється значення 1. Це веде до дискретної, стрибкоподібної зміни, оскільки значення $s_{fl,i,j,k}$ змінюється миттєво.

3.3. Комп'ютерне моделювання динамічної логіки кібер-фізичної імуносенсорної системи.

З метою комп'ютерного моделювання КФІСС використано мову програмування R та середовище розробки R Studio. Це пов'язано з тим, що, незважаючи на велике різноманіття мов програмування, які використовуються при розробці КФС (Assembly, C, C++, D, Java, JavaScript, Python, Ada та ін. [14]) мова R широко використовується в даний час у багатьох галузях, що займаються машинним навчанням і з чим будуть пов'язані подальші дослідження. Візуалізація даних в комп'ютерному моделюванні здійснена за допомогою пакету ggplot.

Чисельні експерименти на основі комп'ютерного моделювання проводилися із врахуванням цілого натурального числа N , яке характеризує кількість пікселів в гексагональній решітці.

Розглянемо модель (15) при $N = 4$, $\beta = 2xv^{-1}$, $\gamma = 2 \frac{\text{мл}}{\text{хв} \cdot \text{мкг}}$, $\mu_f = 1xv^{-1}$, $\eta = \frac{0.8}{\gamma}$, $\delta_v = 0.5 \frac{\text{мл}}{\text{хв} \cdot \text{мкг}}$,

$\delta_f = 0.5 \frac{\text{мл}}{\text{хв} \cdot \text{мкг}}$, $n = 0.9$, $D = 0.2$, $\Delta = 0.3$. було реалізовано для різних значень τ .

Результат комп'ютерного моделювання моделі (15) при $\tau = 0.25$ з набором значень параметрів, які представлені вище, наведено на рис. 3.

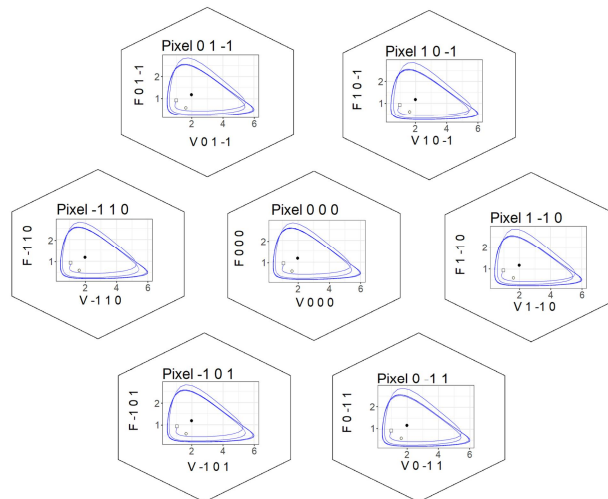


Рисунок 3. Результати чисельного моделювання системи (15) при $\tau = 0.25$. Зображення фазових площин в координатах $(V_{i,j,k}, F_{i,j,k})$ для пікселя $(0,0,0)$ і його шести сусідніх пікселів. Позначення: \square – початковий стан, \circ – ідентичний сталий стан, \bullet – неідентичний сталий стан.

Згідно рис. 3 спостерігаємо якісні зміни поведінки імунопікселів та моделі КФІСС в цілому. Аналізуючи фазові діаграми популяції антигенів щодо антитіл (рис. 3) можна зробити висновок, що при $\tau = 0,25$ виникає біфуркація Хопфа. Для теоретичного обґрунтування виникнення біфуркації Хопфа необхідно обчислити відповідну пару чисто уявних розв'язків характеристичного рівняння лінеаризованої системи (15). Результати чисельного моделювання узгоджені з теоретичними результатами на основі теореми про біфуркацію Хопфа [15]. При цьому розв'язок системи (15) прагне до стійкого граничного циклу з двома локальними екстремумами (один локальний максимум і один локальний мінімум) в циклі.

Для комп'ютерного моделювання кібер-фізичної моделі імуносенсора було використано решітчасті графіки. Спочатку побудовано відповідні графіки, на яких для кожного пікселя представлено ймовірність контакту антигенів з антитілами, як $V_{i,j,k} \times F_{i,j,k}$ при $\tau = 0.25$ (рис. 4).

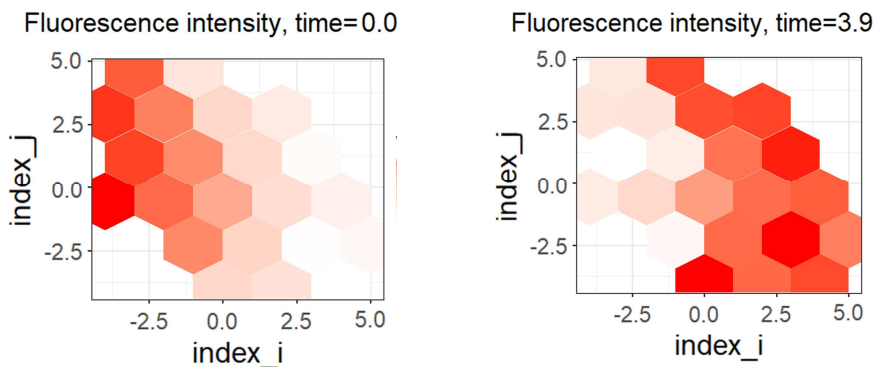


Рисунок 4. Решітчасті зображення ймовірності зв'язків антигенів з антитілами в пікселях системи (15) при $\tau = 0.25$.

На другому етапі комп'ютерного моделювання КФІСС отримано решітчасті графіки флуоресціюючих пікселів на основі виконання умови (20), які наведені на рис. 5.

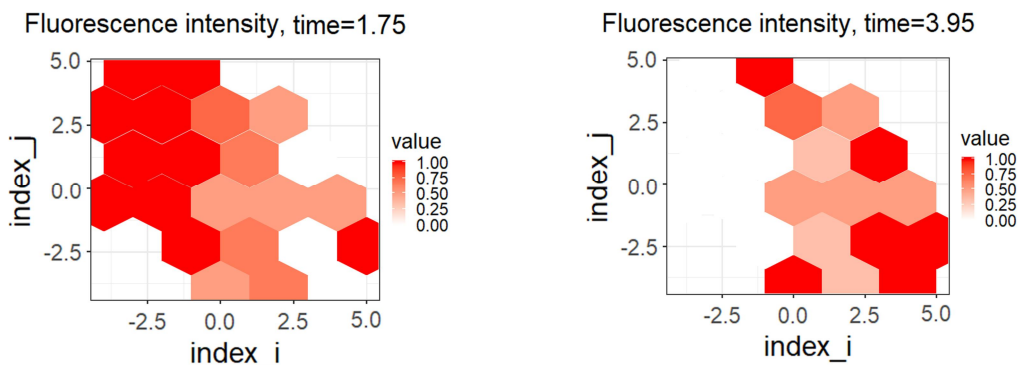


Рисунок 5. Зображення флуоресценціюючих пікселів системи (43) при $\tau = 0.25$.

В якості прикладу завершального етапу комп'ютерного моделювання КФІСС отримано вигляд електричного сигналу перетворювача, який характеризує число флуоресціюючих пікселів в залежності від різного значення запізнення в часі τ (рис. 6). Для чисельного моделювання КФІСС було використано порогове значення для флуоресценції $\Theta_{fl} = 1,5$.

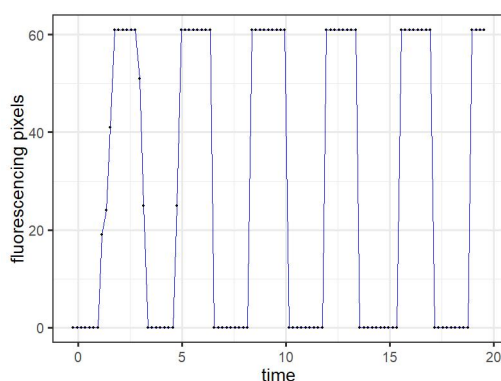


Рисунок 6. Електричний сигнал з перетворювача, який характеризує кількість флуоресціюючих пікселів при $\tau = 0.25$.

Як показали результати чисельного аналізу, флуоресціюючі стани в імунопікселях змінюються відповідно до законів дискретної динаміки.

Висновки та перспективи подальших досліджень

У роботі розглянуто підходи до розробки математичних моделей кібер-фізичних та імуносенсорів у вигляді диференціальних рівнянь в частинних похідних, які б враховували біологічні припущення щодо основних компонент пристрів – симетричну геометрію біосенсорів і однорідний розподіл іммобілізованого ферменту та реакції зв'язування в ферментному шарі, кінетичні властивості бактеріальних ферментативних реакцій, колонії антигенів і антитіл, локалізованих у пікселях, дифузії колонії антигенів між пікселями.

В роботі запропонована модель імуносенсора, яка ґрунтується на системі решітчатих диференціальних рівнянь із запізненням. Побудова моделі ґрунтувалася на ряді біологічних припущень щодо взаємодії колоній антигенів та антитіл, а також дифузії антигенів. Для опису дискретних в просторі колоній, локалізованих у відповідних пікселях, використано апарат решітчатих диференціальних рівнянь.

Запропоновані математичні моделі біосенсорів та імуносенсорів можуть бути використані в інформаційних системах для дистанційного зондування, виявлення ДНК, медичної діагностики, виявлення ферментів, безпеки харчових продуктів та моніторингу навколишнього середовища.

В подальших дослідженнях необхідно провести дослідження стійкості моделей біосенсорів та імуносенсорів на основі частинних похідних та решітчастих диференціальних рівнянь із запізненням.

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. A. Platzer, "Differential dynamic logic for hybrid systems.," J. Autom. Reas., vol. 41, no. 2, pp. 143–189, 2008, ISSN: 0168-7433. DOI: 10.1007/s10817-008-9103-8.

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. Deiaki aspekty vykorystannia imunosensoryv 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.

11. Turner, A. P. (2013). Biosensors: sense and sensibility. *Chem. Soc. Rev.* 42, 3184–3196. doi:10.1039/c3cs35528d.
12. 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.
13. 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.
14. Martsenyuk V.P. Podhod k issledovaniyu globalnoy asimptoticheskoy ustoychivosti reshetchatyih differentsialnyh uravneniy s zapazdyvaniem dlya modelirovaniya immunosensirov / A.S. Sverstyuk, I.E. Andruschak // *Mezhdunarodnyiy nauchno-tehnicheskii zhurnal "Problemy upravleniya i informatiki"*. – 2019. – № 1. – S. 62–74.
15. Sverstiuk A.S. Kiberfizychni biosensorni ta immunosensorni systemy / A.S. Sverstiuk // *Visnyk Khmelnytskoho natsionalnoho universytetu. Tekhnichni nauky.* – Khmelnytskyi, 2019. – № 1. – S. 145–154.
16. Sverstiuk A.S. Research of Global Attractability of Solutions and Stability of the Immunosensor Model Using Difference Equations on the Hexagonal Lattice / A.S. Sverstiuk // *"Innovative biosystems and bioengineering"*. – 2019. – Vol. 3, № 1. – C. 17–26. doi: 10.20535/ibb.2019.3.1.157644.
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. S.L. Snyder, K.B. McAuleya, P.J. McLellana, E.B. Brouwer, T. McCawb, Modeling the thermal stability of enzyme-based in vitro diagnostics biosensors, *Sensors and Actuators B* 156 (2011) 621–630.
19. T.D. Gibson, J.N. Hulbert, S.M. Parker, J.R. Woodward, I.J. Higgins, Extended shelf life of enzyme-based biosensors using a novel stabilization system, *Biosens. Bioelectron.* 7 (1992) 701–708.
20. N.A. Chaniotakis, Enzyme stabilization strategies based on electrolytes and polyelectrolytes for biosensor applications, *Anal. Bioanal. Chem.* 378 (2004) 89–95.
21. S. Cosnier, Biomolecule immobilization on electrode surfaces by entrapment or attachment to electrochemically polymerized films. A review, *Biosens. Bioelectron.* 14 (1999) 443–456.
22. P. d'Orazio, Biosensors in clinical chemistry, *Clin. Chim. Acta* 334 (2003) 41–69.
23. J.T. Carstensen, M. Franchini, K. Ertel, Statistical approaches to stability protocol design, *J. Pharm. Sci.* 81 (1992) 303–308.
24. U.S. Food and Drug Administration, Guidance for industry: Q1A(R2) Stability testing of new drug substances and products., U.S. Department of Health and Human Services; Food and Drug Administration; Center for Drug Evaluation and Research (CDER); Center for Biologics Evaluation and Research (CBER) (2003).
25. D.G. Watts, Estimating parameters in nonlinear rate equations, *Can. J. Chem. Eng.* 72 (1994) 701–710.
26. B. Kommanaboyina, C.T. Rhodes, Effects of temperature excursions on mean kinetic temperature and shelf life, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 25 (1999) 1301–1306.
27. K. McAteer, C.E. Simpson, T.D. Gibson, S. Gueguen, M. Boujita, N. El Murr, Proposed model for shelf-life prediction of stabilized commercial enzyme-based systems and biosensors, *J. Mol. Catal. B: Enzym.* 7 (1999) 47–56.
28. C.-X. Liu, L.-Y. Jiang, H. Wang, Z.-H. Guo, X.-X. Cai, A novel disposable amperometric biosensor based on trienzyme electrode for the determination of total creatine kinase, *Sens. Actuators B* 122 (2007) 295–300.
29. N.J. Ronkainen, H.B. Halsall, W.R. Heineman, Electrochemical biosensors, *Chem. Soc. Rev.* 39 (2010) 1747–1763, <http://dx.doi.org/10.1039/B714449K>.
30. R. Popovtzer, T. Neufeld, D. Biran, E.Z. Ron, J. Rishpon, Y. Shacham-Diamand, Novel integrated electrochemical nano-biochip for toxicity detection in water, *Nano Lett.* 5 (2005) 1023–1027, <http://dx.doi.org/10.1021/nl0503227>.
31. K. Yagi, Applications of whole-cell bacterial sensors in biotechnology and environmental science, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 73 (2007) 1251–1258, <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-006-0718-6>.
32. H. Ben-Yoav, A. Biran, R. Pedahzur, S. Belkin, S. Buchinger, G. Reifferscheid, Y. Shacham-Diamand, A whole cell electrochemical biosensor for water genotoxicity bio-detection, *Electrochim. Acta* 54 (2009) 6113–6118, <http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2009.01.061>.
33. S. Vernick, A. Freeman, J. Rishpon, Y. Niv, A. Vilkin, Y. Shacham-Diamand, Electrochemical biosensing for direct biopsy slices screening for colorectal cancer detection, *J. Electrochem. Soc.* 158 (2011) P1–P4, <http://dx.doi.org/10.1149/1.3507268>.
34. S. Kumar, S. Kundu, K. Pakshirajan, V.V. Dasu, Cephalosporins determination with a novel microbial biosensor based on permeabilized pseudomonas aeruginosa whole cells, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 151 (2008) 653–664, <http://dx.doi.org/10.1007/s12010-008-8280-6>.
35. G.E. Tsotsou, A.E.G. Cass, G. Gilardi, High throughput assay for cytochrome P450 BM3 for screening libraries of substrates and combinatorial mutants, *Biosens. Bioelectron.* 17 (2002) 119–131, [http://dx.doi.org/10.1016/S0956-5663\(01\)00285-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0956-5663(01)00285-8).
36. T. Yoetz-Kopelman, C. Porat-Ophir, Y. Shacham-Diamand, A. Freeman, Whole-cell amperometric biosensor for screening of cytochrome P450 inhibitors, *Sens. Actuators B: Chem.* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2015.09.111>.
37. A.M. Ferrini, V. Mannoni, G. Carpico, G.E. Pellegrini, Detection and identification of b-lactam residues in milk using a hybrid biosensor, *J. Agric. Food Chem.* 56 (2008) 784–788, <http://dx.doi.org/10.1021/jf071479i>.
38. Tal Yoetz-Kopelmana, Richa Pandeya, Amihay Freemanb, Yosi Shacham-Diamand. Modeling of suspended vs. immobilized whole-cell amperometric biosensors. *Sensors and Actuators B* 238 (2017) 1248–1257, <http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2016.09.062>
39. J.M. Montornes, M.S. Vreeke, I. Katakis, Glucose biosensors, bioelectrochemistry, *Fundam. Exp. Tech. Appl* 199–217 (2008) ch5, <http://dx.doi.org/10.1002/9780470753842>; D. Shi, Biosensors in fermentation applications, in: A.F. Jozala (Ed.), *Ferment. Process.*, InTech, 2017, p.310, <http://dx.doi.org/10.5772/711>.
40. D. Semenova, A. Zubova, Yu. E. Silinab, L. Michelic, M. Kochb, A. C. Fernandes, K. V. Gernaey, Mechanistic modeling of cyclic voltammetry: A helpful tool for understanding biosensor principles and supporting design optimization, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 259 (2018) 945–955
41. Martsenyuk V. Stability, bifurcation and transition to chaos in a model of immunosensor based on lattice differential equations with delay / A. Klos-Witkowska, A. Sverstiuk // *Electronic Journal of Qualitative Theory of Differential Equations: No. 2018(27)*, p. 1–31. DOI: 10.14232/ejqtde.2018.1.27.

42. Інтернет-ресурс: <https://www.redblobgames.com/grids/hexagons/>.

43. C.C. McCluskey, "Complete global stability for an SIR epidemic model with delay — distributed or discrete," *Nonlinear Analysis: Real World Applications*, vol. 11, no. 1, pp. 55–59, Feb. 2010. doi: 10.1016/j.nonrwa.2008.10.014. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1016/j.nonrwa.2008.10.014>.

44. A. Nakonechny and V. Marzeniuk, "Uncertainties in medical processes control," *Lecture Notes in Economics and Mathematical Systems*, vol. 581, pp. 185–192, 2006, cited By 2. doi: 10.1007/3-540-35262-7_11. [Online]. Available: https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-53749093113&doi=10.1007%2f3-540-35262-7_11&partnerID=40&md5=03be7ef103cbbc1e94cacbb471daa03f.

45. A. Prindle, P. Samayoa, I. Razinkov, T. Danino, L. S. Tsimring, and J. Hasty, "A sensing array of radically coupled genetic 'biopixels'," *Nature*, vol. 481, no. 7379, pp. 39–44, Dec. 2011. doi: 10.1038/nature10722. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1038/nature10722>.

46. Hale, J. K., Lunel, S. M. V. *Introduction to functional differential equations*. Springer Science & Business Media, 2013, vol. 99