

# ТЕХНОЛОГИЯ ГИДРОГЕЛЕВЫХ БИОЧИПОВ И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ В МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

Д.А. Грядунов<sup>1</sup>, Д.В. Зименков<sup>1,2</sup>, В.М. Михайлович<sup>1</sup>, Т.В. Наседкина<sup>1</sup>, Е.И. Дементьева<sup>1</sup>, А.Ю. Рубина<sup>1</sup>, С.В. Паньков<sup>2</sup>, В.Е. Барский<sup>2</sup>, А.С. Заседателев<sup>1</sup>

1 — Институт молекулярной биологии РАН (ИМБ РАН)

2 — ООО «БИОЧИП-ИМБ»

Д.А. Грядунов, к.б.н., старший научный сотрудник

Д.В. Зименков, к.б.н., научный сотрудник

В.М. Михайлович, к.б.н., старший научный сотрудник

Т.В. Наседкина, к.б.н., старший научный сотрудник

Е.И. Дементьева, к.х.н., научный сотрудник

А.Ю. Рубина, к.х.н., старший научный сотрудник

С.В. Паньков, к.х.н., зам. директора ООО «Биочип-ИМБ»

В.Е. Барский, д.б.н., генеральный директор ООО «Биочип-ИМБ»

А.С. Заседателев, д.ф.-м.н., профессор, заместитель директора ИМБ РАН, зав. Лабораторией биологических микрочипов ИМБ РАН

**Установление молекулярных механизмов действия различных ферментов, структуры генома человека, животных и растений оказывает решающее влияние на развитие медицины 21 века. Открываются тысячи генов, устанавливается их функциональное значение и роль при различных заболеваниях, появляются уникальные возможности для выяснения причин многих наследственных и онкологических заболеваний, ожидается стремительное развитие фармакогенетики и прогностической медицины.**

**Индивидуальный анализ множества генов, белков и клеточных секретов для каждого конкретного пациента являлся бы чрезвычайно информативным инструментом, однако проведение такого анализа представляет в настоящее время сложную и дорогую экспериментальную задачу. Необходимо развитие принципиально новых подходов для создания многопараметрической молекулярной диагностики, которая должна стать повсеместно доступной для исследовательских групп и клиник.**

Одним из ответов на эти запросы явилось создание технологии биологических микрочипов (биочипов), которые, подобно электронным микрочипам, обрабатывают огромные массивы цифровой информации, предназначены для молекулярного считывания и обработки больших объемов биологической информации.

Главным элементом биочипов является матрица микроячеек, каждая из которых содержит молекулярные зонды, специфичные к одной из множества биологических молекул или их фрагментов. Такими зондами могут служить олигонуклеотиды, фрагменты геномной ДНК, РНК, белки, рецепторы, антитела, низкомолекулярные лиганды, олигосахариды и др. Целью настоящей статьи является ознакомление читателя с технологией Биочипов®, разрабатываемой в Ин-

ституте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН (ИМБ РАН), а также краткий обзор ряда диагностических приложений, созданных на основе данной технологии и уже применяющихся в медицинской практике Российской Федерации, стран ближнего и дальнего зарубежья.

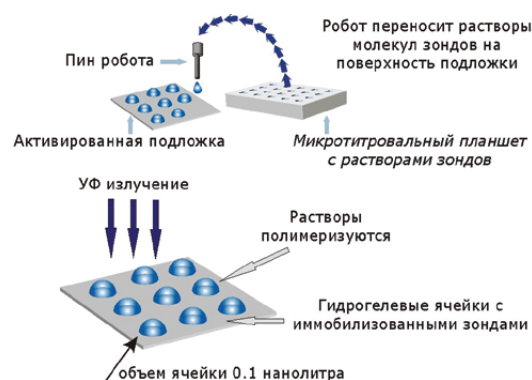


Рисунок 1. Схема изготовления биочипа с гидрогелевыми ячейками, в которых иммобилизованы зонды.

## Основные элементы технологии и принцип работы биочипов

Принципиальным отличием технологии, разрабатываемой в ИМБ РАН, от других технологий матричных биочипов является иммобилизация зондов не на плоской поверхности подложки, а в элементах гидрогеля полусферической формы. Растворы зондов, смешанные с гелеобразующими мономерами, наносятся на активированную поверхность пластиковой или стеклянной подложки с помощью игольчатых растров (пинов) механического робота (Рис. 1). Под действием ультрафиолетового излучения происходит совместная полимеризация молекулярных зондов с основными компонентами геля. В результате этой реакции иммобилизуемые молекулы ковалентно присоединяются к мономерам растущей полимерной цепи и равномерно распределяются во

всем объеме каждой гелевой ячейки. Контроль качества нанесения осуществляется с помощью специализированной оптики и компьютерного анализа изображения.

Ячейки с иммобилизованными зондами располагаются упорядоченными рядами, причем каждая ячейка содержит уникальный индивидуальный зонд. В зависимости от типа биочипа диаметры гелевых ячеек варьируют от 50 до 300 мкм, а расстояния между ячей-

ками от 100 до 500 мкм. Количество ячеек на биочипе зависит от сложности анализируемой мишени (ей) и задач эксперимента и составляет от нескольких десятков до нескольких тысяч.

В качестве метки при регистрации результатов анализа используют флуоресцентные красители. В случае анализа последовательностей ДНК гибридационную пробу — исследуемый фрагмент генома — готовят, как правило, методом ПЦР с одновременным включением флуоресцентной метки. Размер амплифицированного фрагмента находится в пределах 100-1000 пар нуклеотидов. С целью проведения чувствительного и эффективного гибридационного анализа в ИМБ РАН разработан ряд флуоресцентных красителей и их производных, являющихся аналогами цианиновых красителей Cy3 и Cy5 [1]. В случае анализа, проводимого на белковых биочипах, флуоресцентная метка вводится либо непосредственно в молекулу образца, либо в молекулу проявляющего антигена, специфичного к анализируемому антигену, при проведении сэндвич-иммуноанализа.

Интенсивности флуоресценции ячеек измеряют с помощью универсального аппаратно-программного комплекса для анализа биочипов (УАПК) (Регистрационное удостоверение Росздравнадзора № ФС 022а2006/3777-06) (Рис. 2). Специальное программное обеспечение «Imageware»® вычисляет интенсивности флуоресцентных сигналов в ячейках, определяет, в каких ячейках образовались совершенные комплексы, и выдает отчет о наличии в исследуемом образце специфичной мишени — микроорганизма, вируса, мутации, точечного нуклеотидного полиморфизма, хромосомной перестройки, онкомаркера и т.д.

Ниже приведено краткое описание основных приложений гелевых биочипов для медицинской лабораторной диагностики.

### Биочипы для анализа возбудителей инфекционных заболеваний

Первой методикой, разработанной в ИМБ РАН для нужд практической медицины и разрешенной к примене-



Рисунок 2. Универсальный аппаратно-программный комплекс для анализа биочипов.

нию в медицинской практике, стала тест-система «ТБ-Биочип» для идентификации возбудителя туберкулеза *M.tuberculosis* (МБТ) и выявления мутаций в его геноме, ответственных за устойчивость к рифампицину и изониазиду [2].

Процедура основана на мультиплексной ПЦР с последующей гибридизацией на биочипе и позволяет обнаружить около 95% Rif-устойчивых и 88% Inh-устойчивых штаммов *M. tuberculosis* в клинических образцах в течение 24 часов (к настоящему моменту протестировано свыше 11000 образцов). Специфичность анализа близка к 100% для обоих препаратов. В настоящее время набор реагентов «ТБ-Биочип» (Рег. Уд. № ФС 03262004/0889-04) успешно применяется в клинических лабораториях более чем в 20 противотуберкулезных учреждениях РФ и Киргизии (<http://www.biochip-imb.ru/products/tb-biochip.html>), а также в Центре по контролю над заболеваниями (CDC) США.

Для определения устойчивости возбудителя туберкулеза к фторхинолонам разработана тест-система «ТБ-Биочип-2» (Рег. Уд. ФС 01012006/3257-06). Чувствительность и специфичность метода, определенные по результатам клинических испытаний, составили 93 и 100%, соответственно [3].

Применение тест-систем «ТБ-Биочип» и «ТБ-Биочип-2» для диагностики туберкулеза и его лекарственно-устойчивых форм в российских специа-

лизированных медицинских учреждениях, позволяет получать экономию более 70 рублей бюджетных средств в расчете на каждый вложенный рубль [4] за счет оперативного получения результатов анализа и оптимизации схемы лечения больного.

Совместно с Лабораторией вирусологии госпиталя Университета г. Тулузы (Франция) в ИМБ РАН разработан новый, не имеющий аналогов в мире подход для типирования вируса гепатита С (ВГС) на основе анализа области NS5B (рис. 3) [5]. Существующие в настоящее время методы генотипирования ВГС обнаруживают ограниченное количество подтипов (не более 20) и обладают низкой специфичностью (менее 70%) в отношении дифференциации подтипов генотипа 1, в частности подтипа 1b, являющегося наиболее вирулентным и устойчивым к терапии рибавирином и интерфероном. Разработанный биочип позволяет идентифицировать все 6 генотипов и 36 подтипов ВГС, включая наиболее вирулентные и лекарственно-устойчивые формы с эффективностью, близкой к 100%.

Тест-система «НСV-Биочип» успешно прошла клинические испытания в России и Франции. В ходе испытаний было проанализировано

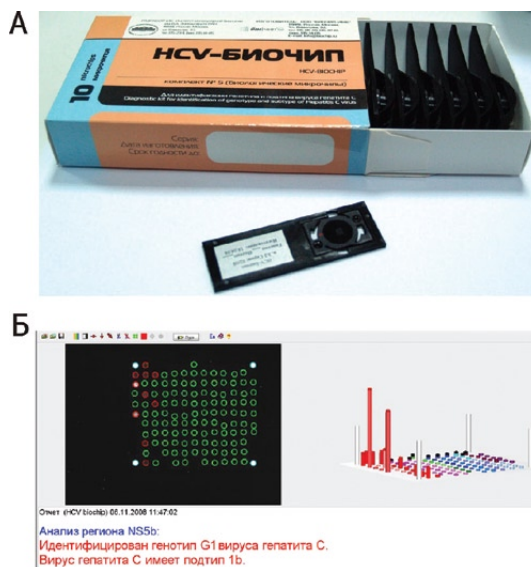


Рисунок 3. (А) Комплект биологических микроочипов, входящий в состав тест-системы «НСV-Биочип».

(Б) Результат определения генотипа и подтипа ВГС. Левая панель демонстрирует флуоресцентную картину биочипа после гибридизации. На правой панели представлена гистограмма нормированных интенсивностей сигналов ячеек. Результат выдается в текстовом формате согласно разработанному алгоритму интерпретации.

более 300 образцов плазмы крови, содержащей ВГС, при использовании метода секвенирования области NS5B в качестве референсного. Специфичность тест-системы в отношении идентификации генотипа и подтипа ВГС составила 100% и 96%, соответственно.

Совместно с НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН в ИМБ РАН разработан биочип для идентификации 30 разновидностей вируса гриппа А, позволяющий идентифицировать 15 типов гемагглютинина (Н1-Н15) и 2 типа нейраминидазы (N1, N2) [6]. Тестирование метода с использованием образцов РНК, выделенных из референсных штаммов вируса гриппа А, а также клинических и полевых образцов, продемонстрировало высокую (более 90%) степень корреляции с результатами, полученными традиционными методами (изоляция вируса с последующим иммунологическим типированием), а также возможность точной дифференциации вновь возникающих генотипов высоковирулентных штаммов H5N1 и H1N1 (Рис. 4).

В ИМБ РАН также разработаны прототипы биочипов для медицинских приложений, биочипы для определения видовой принадлежности вирусов оспы и отличия их от возбудителей других заболеваний, схожих по клинической картине, биочипы для одновременной идентификации возбудителей неонатальных и внутриутробных заболеваний различной природы, биочипы для анализа лекарственной устойчивости ВИЧ-1 и др. [7].

Специально разработанные гидрогелевые биочипы для одновременного обнаружения ВИЧ-1, вирусов гепатита В и С в образцах плазмы крови с помощью проведения ПЦР на биочипе с детекцией в режиме реального времени позволяют про-

водить не только качественную, но и количественную идентификацию нескольких мишеней в анализируемом образце. Чувствительность метода не уступает показателям зарубежных коммерческих тест-систем, основанных на ПЦР с детекцией в реальном времени [8].

#### Биочипы для анализа генома человека

Молекулярный анализ генома человека все чаще используется для диагностики наследственных заболеваний, анализа генетических изменений в опухолевых клетках при уточнении диагноза и выборе терапии в онкологии. Получила развитие персонализированная медицина, которая изучает генетические особенности человека, его предрасположенность к

различным заболеваниям и разрабатывает профилактические меры для их предупреждения. При лечении заболеваний с помощью современных лекарственных средств остро встает вопрос о переносимости лекарственных препаратов и предупреждении развития побочных реакций. В ИМБ РАН разработан ряд биочипов для анализа генетических изменений у человека при различных заболеваниях: ЛК-Биочип, ПФ-Биочип, ПФ-Биочип(РМЖ), ПФ-Биочип(Кардио), ПФ-Биочип(Фибр), ИЛ-Биочип (<http://www.biochip.ru/lab/research/humangenome.html>).

Среди онкологических заболеваний у детей лейкозы занимают ведущее место. Успех в лечении лейкозов достигается благодаря рационализации терапии, основанной на углубленной диагностике заболевания, в том числе и с использованием молекулярно-генетических методов. При создании диагностической тест-системы были выбраны 13 наиболее клинически значимых и часто встречающихся при лейкозах транслокаций: t(9;22)BCR/ABL p190 и p210, t(12;21)TEL/AML, t(1;19)E2A/PBX, t(15;17)PML/RARA, t(8;21)AML/ETO, inv16 CBFB/MYH, t(4;11)MLL/AF, а также другие транслокации с участием гена MLL. Каждая из этих транслокаций определяет вариант лейкоза с определенными клиническими характеристиками, характером течения заболевания, прогнозом и важна для выбора стратегии лечения. Метод апробирован на клинических образцах 1200 пациентов. В настоящее время этот подход используется для определения транслокаций при лейкозах в гематологических отделениях РДКБ и других детских больниц [9,10]. Точность разработанной тест-системы «ЛК-Биочип» (Рег. Уд. № ФС 01262006/4756-06) составляет не менее 95%.

Изменение активности ферментов биотрансформации и несбалансированность работы ферментов отдельных стадий этого процесса может приводить к повышенной восприимчивости организма к вредным воздействиям и, как следствие, к увеличению риска развития различных заболеваний, в том числе онкологиче-

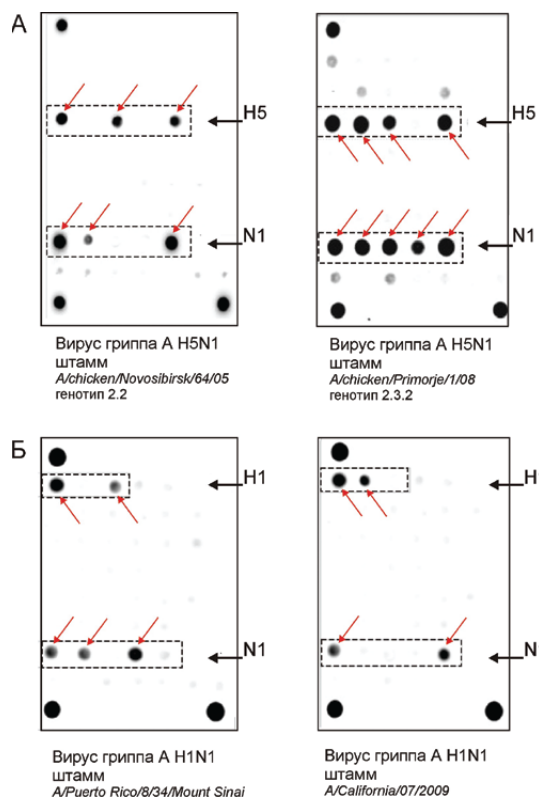


Рисунок 4. Идентификация вирусов гриппа А на специализированном биочипе. Рамкой выделены группы ячеек, содержащие зонды, специфичные к определенному варианту гемагглютинаина или нейраминидазы. Красными стрелками указаны ячейки, в которых образовались совершенные гибридационные дуплексы, однозначно определяющие тип гемагглютинина или нейраминидазы. (А) Флуоресцентные картины гибридизации при анализе образцов вируса гриппа А H5N1, полученных при эпизоотиях в Новосибирске в 2005 г. (генотип 2.2) и в Приморье в 2008 г. (генотип 2.3.2). (Б) Флуоресцентные картины гибридизации при анализе «человеческого» (штамм выделен в 1934 г.) и «свиного» (штамм 2009 г.) вариантов вируса гриппа А H1N1.

ских. Диагностическая тест-система «ПФ-Биочип» (Рег. Уд. № ФС 01262006/5317-06) предназначена для анализа полиморфизма в генах системы биотрансформации. При создании тест-системы были выбраны гены *CYP1A1*, *CYP2D6*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, кодирующие ферменты 1-й стадии процесса биотрансформации, гены *GSTT1*, *GSTM1*, *NQO1*, *NAT2*, *TPMT*, продукты которых участвуют во 2-й стадии биотрансформации, и гены *MTHFR* и *MTRR*, продукты которых участвуют в метаболизме фолатов. С использованием разработанного подхода были проведены исследования по определению частот различных аллелей генов системы биотрансформации в группах здоровых доноров и больных онкогематологическими заболеваниями [11] (Рис. 5).

«ПФ-биочип» используется в ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН и в ГУ Научном центре здоровья детей РАМН для определения индивидуальной чувствительности к некоторым лекарственным препаратам, в том числе тиопуринам, а также риска развития некоторых многофакторных заболеваний и составления генетического паспорта. Наборы реагентов «ПФ-биочип (Кардио)» и «ПФ-биочип (Фибр)» разработаны для определения полиморфизма в генах ренин-ангиотензиновой системы и генах гемостаза и используются для анализа генетической предрасположенности к развитию осложнений при беременности.

### Белковые биочипы

Белковые молекулы, в отличие от ДНК и олигонуклеотидов, являются особенно восприимчивыми к своему окружению. Разнообразие физико-химических свойств белков делает их иммобилизацию в формате микрочипа достаточно сложной задачей. Технология изготовления гидрогелевых микрочипов, разработанная в ИМБ РАН, позволяет проводить иммобилизацию белков и ферментов с сохранением их свойств, а гидро-

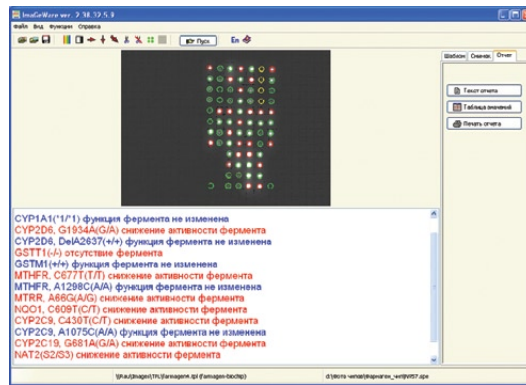


Рисунок 5. Результат анализа фармакогенетического статуса человека с помощью тест-системы «ПФ-Биочип».

фильное окружение иммобилизованных белковых молекул в гелевых ячейках обеспечивает длительный срок хранения белковых биочипов (свыше одного года) [12].

Маркеры онкологических заболеваний широко используются в клинической практике для ранней диагностики и контроля за лечением злокачественных опухолей. Одновременное определение нескольких онкомаркеров повышает эффективность скринингового анализа и увеличивает возможности дифференциальной диагностики заболеваний. Традиционные иммунологические методы позволяют выявлять содержание только одного маркера в одном клиническом образце. В ИМБ РАН разработано несколько мультиплексных систем на основе белковых иммуночипов для одновременного параллельного иммуноанализа образца по нескольким параметрам.

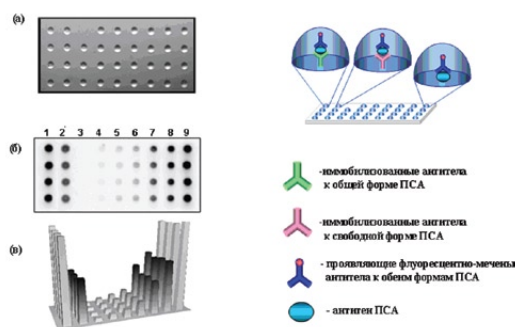


Рисунок 6. Биочип для анализа ПСА (общая и свободная формы), содержащий внутреннюю калибровочную кривую.

а) Вид биочипа в проходящем свете.  
б) Флуоресцентное изображение биочипа после проведения анализа.  
в) Результат компьютерной обработки данных: высота столбцов отражает интенсивность флуоресцентного сигнала.

Набор реагентов «ОМ-Биочип(ПСА)» (Рег. Уд № ФСР 2007/01418) позволяет проводить одновременное количественное определение общей и свободной форм простат-специфического антигена (ПСА) и их соотношения в сыворотке крови человека. Процедура использует одностадийный сэндвич-иммуноанализ с флуоресцентной регистрацией сигнала. Биочип содержит гелевые элементы с иммобилизованными антителами и ряды элементов с иммобилизованным антигеном (ПСА) в возрастающих концентрациях (внутреннюю калибровочную кривую, Рис. 6), что позволяет проводить параллельный анализ двух форм ПСА в формате один пациент — один микрочип без построения калибровочных кривых, необходимых для традиционной ИФА-системы [13].

Сотрудниками НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН проведена экспериментальная эксплуатация тест-системы «ОМ-Биочип(ПСА)» с использованием сывороток крови больных онкологическими заболеваниями и здоровых доноров (всего — 223 образца сыворотки) [14]. Регрессионный анализ показал высокую степень корреляции ( $r=0,96$ ;  $p<0,0001$ ) данных определения двух форм ПСА в формате биочипа и иммуноферментной системе («CanAg» Швеция).

Набор реагентов «ОМ-Биочип» (Рег. Уд. № ФСР 2008/03415) позволяет проводить одновременное количественное определение шести опухолевых маркеров: общей и свободной форм ПСА, альфа-фетопротейна (АФП), ракового эмбрионального антигена (РЭА), хорионического гонадотропина человека (ХГЧ), нейрон-специфической енолазы (НСЕ) в сыворотке крови человека. Преимуществами данной тест-системы по сравнению с традиционными ИФА-методами является одновременное количественное определение шести

показателей и возможность контроля хук-эффекта, приводящего к ложно заниженным результатам и искажению диагностической картины. Основные аналитические характеристики тест-системы «ОМ-Биочип» полностью удовлетворяют требованиям, предъявляемым к иммуноаналитическим системам [15].

В настоящее время на завершающей стадии разработки в рамках Гос. контракта № 02.512.11.2232 находится тест-система «ОМ-Биочип(РС)» предназначенная для одновременного количественного определения серологических маркеров для выявления ранних стадий опухолеобразования при заболеваниях репродуктивной системы (раке яичников и раке молочной железы): АФП, РЭА, ХГЧ, раковых антигенов СА 125, СА 15-3 и СА 19-9. Такая тест-система позволит в рамках одного обследования пациента проводить дифференциальную диагностику широкого круга онкозаболеваний и осуществлять раннее обнаружение злокачественных опухолей различной локализации. Одновременное определение содержания этих онкомаркеров позволит также уточнить имеющиеся представления об их диагностической значимости и специфичности к различным видам опухолей.

## Заключение

Возможности технологии гидрогелевых биочипов чрезвычайно велики. Проведение многопараметрического качественного и/или количественного анализа биологического образца позволяет охватить практически все области медицинской диагностики. Созданные на базе ИМБ РАН производственные мощности, сертифицированные по стандартам ISO 9001 и ISO 13485, позволяют выпускать до 1 млн биочипов в год. При этом стоимость теста с использованием разработанных тест-систем, близка к стоимости рутинного ПЦР-анализа.

Технология биочипов интенсивно развивается. Разрабатываются новые подходы, позволяющие упростить и ускорить методику, интегрировать в единую процедуру все стадии проведения анализа, включая


обработку биологического образца, выделение нуклеиновых кислот, амплификацию специфических мишеней непосредственно на биочипе с количественной идентификацией в режиме реального времени. Такие «Лаборатории на чипе» позволят значительно улучшить качество лабораторной диагностики, снизить вероятность заражения медперсонала потенциальным инфекционным материалом, уменьшить количество ложно-положительных и ложно-отрицательных результатов, сократить бюджетные ассигнования на лечение и повысить качество жизни населения в целом.

## Литература

1. В.Е. Кузнецова, В.А. Василисков, О.В. Антонова, В.М. Михайлович, А.С. Заседателев, А.В. Чудинов. Новые индодикарбоцианиновые красители для технологии биологических микрочипов. *Биоорганическая химия* 2008, т. 34 (1): 141-144.
2. D. Gryadunov, V. Mikhailovich, S. Lapa, N. Roudinskii, M. Donnikov, S. Pan'kov, O. Markova, A. Kuz'min, L. Chernousova, O. Skotnikova, A. Moroz, A. Zasedatelev and A. Mirzabekov. Evaluation of hybridisation on oligonucleotide microarrays for analysis of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Clinical microbiology and infection* 2005. Vol 11:p.531-539.
3. О.В. Антонова, Д.А. Грядун, С.А. Лапа, А.В. Кузьмин, Е.Е. Ларионова, Т.Г. Смирнова, Е.Ю. Носова, О.И. Скотникова, Л.Н. Черноусова, А.М. Мороз, А.С. Заседателев, В.М. Михайлович. Выявление мутаций в геноме *Mycobacterium tuberculosis*, приводящих к устойчивости к фторхинолонам, методом гибридизации на биологических микрочипах. *Биолетень экспериментальной биологии и медицины* 2008. №1. стр. 115-120.
4. И.М. Сон, А.М. Мороз, С.А. Стерликов, Е.И. Скачкова, Е.Ю. Носова, К.Ю. Галкина, М.А. Краснова, А.А. Букатина. Руководство по выявлению микобактерий туберкулеза и определению лекарственной чувствительности с использованием биологических микрочипов». Москва, РИО ЦНИИИОИЗ, 2009, 56 с.
5. Gryadunov D., Mikhailovich V., Nicot F., Dubois M., Zasedatelev A., Izopet J. Method for identifying the genotype and subtype of Hepatitis C virus on a biological microchip. Patent WO/2009/022939 (PCT/RU2007/000438), published 19.02.2009, priority from 09.08.2007.
6. E. Fesenko, D. Kireyev, D. Gryadunov, V. Mikhailovich, T. Grebennikova, D. L'vov, A. Zasedatelev. Oligonucleotide microchip for subtyping of influenza A virus. *Influenza and Other Respiratory Viruses*. 2007 Vol 1, No 3, pp. 121-129.
7. V. Mikhailovich, D. Gryadunov, A. Kolchinsky, A.A. Makarov, and A. Zasedatelev. DNA microarrays in the clinic: infectious diseases.

*Bioessays*. 2008. Vol 30 (7), pp 673-682.

8. Khodakov D.A., Zakharova N.V., Gryadunov D.A., Filatov I.P., Zasedatelev A.S., Mikhailovich V.M. An oligonucleotide microarray for multiplex real-time PCR identification of HIV-1, HBV, and HCV. *Biotechniques*. 2008 44(2):241-248
9. Наседкина Т.В., Гусева Н.А., Митяева О.Н., Гра О.А., Федорова О.Е., Кожекбаева Ж.М., Глотов А.С., Паньков С.В., Юрасов Р.А., Чудинов А.В., Заседателев А.С. Микрочипы в диагностике лимфопролиферативных заболеваний. *Молекулярная медицина* 2007, 3: 54-60.
10. Nasedkina T.V., Guseva N.A., Gra O.A., Mityaeva O.N., Chudinov A.V., Zasedatelev A.S. Diagnostic microarrays in hematologic oncology: applications of high- and low-density arrays. *Molecular diagnosis & Therapy*. 2009;13(2):91-102.
11. Gra O., Glotova A., Nikitin E., Glotov O., Kuznetsova V., Chudinov A., Nasedkina T. Polymorphisms in xenobiotic-metabolizing genes and the risk of Chronic Lymphocytic Leukemia and Non-Hodgkin's Lymphoma in adult Russian patients. *American Journal of Hematology*. 2008 83(4): 279-287.
12. Rubina A.Y., Kolchinsky A., Makarov A.A., Zasedatelev A.S. Why 3-D? Gel-based microarrays in proteomics. *Proteomics*. 2008, 8(4):817-831.
13. Е.В. Коновалова, Е.Н. Савватеева, Е.И. Дементьева, М.А. Филиппова, А.Ю. Турыгин, Т.В. Осипова, Т.П. Рябых, А.Ю. Рубина, А.С. Заседателев. Разработка биочипа для количественного определения двух форм простата-специфического антигена с использованием внутренней калибровочной кривой. *Молекулярная биология*. 2007 41(4), 734-738.
14. Соколова З.А., Рябых Т.П., Осипова Т.В., Карасева В.И., Матвеев В.Б., Барышников А.Ю. Разработка диагностических систем для выявления онкологических заболеваний на основе технологии биологических микрочипов. Материалы Первого Международного форума по нанотехнологиям (Руснанотех), 3-5 декабря 2008 г., Москва (<http://rusnanoforum08.1co.ru/Post.aspx/Show/19315>)
15. Савватеева Е.Н., Дементьева Е.И., Цыбульская М.В., Осипова Т.В., Рябых Т.П., Турыгин А.Ю., Юрасов Р.А., Заседателев А.С., Рубина А.Ю. Биологический микрочип для одновременного количественного иммуноанализа маркеров онкологических заболеваний в сыворотке крови человека. *Биолетень экспериментальной биологии и медицины* 2009, №6, С. 679-683.



**Институт молекулярной биологии  
им. В.А. Энгельгардта РАН**  
119991 Москва, ул. Вавилова, 32  
Телефон: **8 (499) 135 23 11**  
Факс: **8 (499) 135 14 05**

