

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В МЕДИЦИНЕ И БИОЛОГИИ

УДК 576.833.26:578.53.083.2

Ю.П. Джиоев

БИОЧИПОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ: ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ И ИННОВАЦИОННАЯ СТРАТЕГИЯ В ОБЛАСТИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Институт эпидемиологии и микробиологии ГУ НЦ МЭ ВСНЦ СО РАМН (Иркутск)

В данной обзорной статье представлена информация об этапах развития и современном технологическом прогрессе в области биочиповых технологий. Характеризуются их актуальность как в молекулярной диагностике инфекционных и неинфекционных заболеваний, так и в области исследований структурного и функционального разнообразия молекулярных основ живых систем. Отмечен приоритетный вклад российских ученых в создании биочипов. Представлены собственные разработки по созданию диагностической биочиповой тест-системы с новыми технологическими и диагностическими характеристиками.

Ключевые слова: биочипы, этапы развития, российские ученые, области приложения, собственные разработки по биочипам

BIOCHIP TECHNOLOGY: STAGES OF DEVELOPMENT AND INNOVATION STRATEGY IN THE FIELD OF MOLECULAR DIAGNOSTICS OF INFECTIOUS DISEASES

Yu.P. Dzhioyev

Institute of Epidemiology and Microbiology SC ME ESSC SB RAMS, Irkutsk

In given survey the information on stages of development and modern technological progress in area biochips of technology is submitted. Are characterized their urgency as in molecular diagnostics of infectious and not infectious diseases, and in the field of researches of a structural and functional variety of molecular bases of alive systems. The priority contribution of the Russian scientists in creation biochips is marked. The own treatments on creation diagnostic biochips the test of system with the new technological and diagnostic characteristics are submitted.

Key words: biochips, stages of development, Russian scientific, areas of the application, own treatments on biochips

Последнее десятилетие XX и начало XXI вв. ознаменовались большими достижениями в области наук о жизни — расшифровкой полных геномов человека и ряда организмов из мира животных [30, 44]. Это свидетельствует о том, что технологии исследований молекулярных основ жизни достигли качественно новой ступени развития. Стало возможным решать масштабные проблемы изменчивости, наследственности, взаимоотношений и эволюции структур и функции основных «кирпичиков» живых систем — генов, геномов, белков на разных уровнях организации жизни. Пришла эпоха интегральных исследований как отдельных организмов, так и сообществ организмов, возникло единое пространство геномной и белковой информации, которое стремительно наращивает свой информационный потенциал. Более того, результаты этих исследований в наибольшей мере стали использоваться в медицинской и биомедицинской практике [22]. В этой области развитие молекулярно-генетических подходов

наиболее многопланово и масштабно по глубине революционных преобразований. Здесь в ближайшее время ожидаются наиболее заметные результаты в диагностике, лечении и профилактике многих инфекционных и неинфекционных заболеваний человека и животных. Параллельно с этим прогрессом в биологии не менее значимы достижения в области нанотехнологии [13—15]. На стыке этих двух революционных направлений сформировалась новая область развития фундаментально-прикладных исследований — нанобиотехнология. Наиболее ярко выражена реализация новых знаний из этой области в развитии биочиповых технологий. Биочиповые технологии стремительно завоевывают новые ниши в медицине и биологии [1, 2, 3, 8, 14, 34].

Биологические микрочипы (биочипы) или как их еще называют в иностранной литературе — DNA microarrays, — это один из новейших и тонких инструментов современной биологии и медицины. Что же такое биочип? Технологически био-

чип представляет собой специальный носитель (небольшую пластинку) — матрицу. Матрица — это чаще всего пластинка из стекла или пластика (иногда используют и другие материалы) на которой в строго определенном порядке размещены ячейки, на каждой из которых закреплены (иммобилизованы) олигонуклеотиды (последовательности нуклеотидов ограниченной длины). Длина олигонуклеотидов (олигозондов) во всех ячейках одинаковая, отличаются они лишь разным сочетанием последовательностей нуклеотидов. На пластине размером в 1 кв. см может быть размещено до миллиона таких ячеек. Принцип работы ДНК-биочипа сравнительно прост и основан на принципе комплементарности оснований (нуклеотид аденин образует пару только с нуклеотидом тимин, а гуанин с цитозином в двухцепочечной ДНК) образовывать химические связи. Выделенная ДНК (РНК) исследуемого материала амплифицируется в полимеразной реакции (ПЦР) и по ходу реакции ПЦР-фрагменты метятся флуоресцентным красителем [4, 12, 25, 28, 38]. Получается огромный набор маркированных фрагментов, являющихся составными частями исходной ДНК (РНК). Эта смесь наносится на все ячейки чипа и идет процесс гибридизации (связывания комплементарных оснований) фрагмента ДНК с олигозондом. Если в наборе имеются фрагменты ДНК (РНК), комплементарные закрепленным на ячейке олигозондам, то между ними образуется связь и при отмывании эти фрагменты не смываются, а не связавшиеся — смываются. Затем такой чип помещается под флуоресцентный микроскоп, где по флуоресцентному сигналу связавшихся фрагментов ДНК определяется генетический состав проб. Носителем этой информации являются интенсивность и цвет меченой пробы. Следовательно, зная структуру олигонуклеотидов, закрепленных на ячейке и однозначность образования комплементарных пар, можно сделать вывод о составе фрагмента исследуемой ДНК (РНК).

Это общая универсальная схема механизма действия биочипов, но уже сегодня существуют и работают огромное количество технологических модификации микрочипов — ДНК, белковые, клеточные, экспрессионные, в которых используются разные типы носителей чипов — стеклянные, гелевые, кремниевые, пластиковые, пористые мембраны [6, 7, 12, 18, 28, 36, 38]. Есть уже множество областей биологии и медицины, где применяются биочипы: в молекулярной биологии — для быстрого секвенирования геномов и генов, выявления точечных мутации, экспрессии генов [9, 31]; в медицине — для выявления онкогенов, мутации наследственных болезней, генов предрасположенности к соматическим болезням [32]; в молекулярной диагностике — для идентификации и типирования патогенных микроорганизмов в клинических образцах и окружающей среде, подбора подходящего донора при пересадке органов [11, 17, 21, 25]; в фармакогенетике — выявление генетических и белковых маркеров, контролирующих метаболизм лекарств, ге-

нов, ответственных за устойчивость к лекарствам и ксенобиотикам [10, 16]. Спектр областей использования биочипов с каждым годом расширяется, и круг проблемных направлений в ближайшие годы будет фокусироваться в основном, как видим, на здоровье человека.

История развития биочиповых технологии охватывает небольшой период времени. В конце 1980-х гг., когда началось обсуждение глобального проекта «Геном человека», в нескольких лабораториях практически одновременно возникла идея секвенирования (расшифровка последовательного расположения нуклеотидных оснований в геномах живых систем) с помощью гибридизации (СПГ). Технологических вариантов реализации этой идеи было несколько, и первыми здесь были югославские исследователи Дрманач и Чрквеняков, которые в 1987 г. запатентовали свой подход по этой проблеме [23, 39]. Они предложили иммобилизовать на твердую поверхность анализируемую ДНК и проводить ряд последовательных гибридизаций с комплементарными олигонуклеотидными зондами. Каждый раунд гибридизации должен был выявлять фрагменты, где содержалась соответствующая последовательность. Независимо от них А.Д. Мирзабеков с сотр. в 1988 г. предложил иную модель гибридизации [1, 9, 34]. Согласно его проекту, иммобилизации подлежал набор коротких олигозондов, содержащий все возможные последовательности определенной длины, а анализируемый с помощью гибридизации образец — фрагмент меченой ДНК с неизвестной последовательностью находился в растворе. Частичное перекрывание последовательностей иммобилизованных олигонуклеотидов, которое гибридизовали с данным образцом, должно было дать искомый результат. В последующем эта технологическая модель биочипа стала преобладающим в конструировании ДНК-чипов.

Несмотря на разрушительные для российской науки 90-е годы XX столетия академик А.Д. Мирзабеков с сотр. сумел сохранить за Россией приоритет в этой области и организовать крупномасштабное и взаимовыгодное сотрудничество с западными партнерами [4–7, 9, 11, 17, 34]. Наиболее длительное и плодотворное сотрудничество было с Аргонской лабораторией (США), с которой с 1993 по 2001 гг. было опубликовано около 40 работ, получено 15 патентов и заработано из различных источников более 20 миллионов долларов. К 2001 г. лаборатория А.Д. Мирзабекова по биочипам в Институте молекулярной биологии РАН уже имела достаточный объем финансирования, чтобы продолжить работу самостоятельно в России. За это время и последующие годы нашими учеными была создана технология производства биочипов, содержащих до нескольких тысяч элементов, с иммобилизованными олигонуклеотидами, белками и другими молекулами. Разработаны инструменты для регистрации измерений на биочипах, в том числе в режиме реального времени, и соответствующее программное обеспечение [19]. Отрабо-

таны условия для проведения самых разнообразных реакций, в которых могут участвовать иммобилизованные молекулы, — гибридизации, ПЦР, лигирования, ферментативных реакций и т.д. Еще одной заслугой коллектива Мирзабекова А.Д. является то, что они одними из первых в начале 90-х г. начали разработку диагностических микрочипов, которые содержали олигонуклеотиды на некоторые возбудители инфекции [33]. Гибридизация, проведенная на таком биочипе, давала возможность сделать вывод о наличии или отсутствии в исследуемой пробе того или иного инфекционного агента. В последующие годы ими были созданы биочипы, позволяющие выявлять лекарственно-устойчивые формы туберкулеза и эти чипы нашли впоследствии широкое применение в практической медицине [5, 33]. В настоящее время в разных странах (США, Англии, Франции, России) создаются микрочипы, содержащие огромный набор зондов, позволяющий идентифицировать самый широкий спектр возбудителей как бактериального, так и вирусного происхождения. Вне всякого сомнения, биочипы, используемые для разного рода диагностических целей, будут применяться все более широко, т.к. представляют собой чувствительный, высокоспецифичный, достоверный и быстрый, но, к сожалению, пока еще слишком дорогой метод исследования. Но наряду с такими микрочипами уже с конца 90-х годов в молекулярной медицине начали использовать биочипы нового поколения — экспрессионные биочипы. На сегодня и на ближайшее десятилетие инновационная стратегия биочиповых технологий, в основном, будет направлена на реализацию проектов в молекулярной диагностике инфекционных и неинфекционных заболеваний человека, в которых предметом анализа будет выявление причин возникновения заболеваний на молекулярном уровне [11, 22, 35].

Экспрессионные биочипы являются новым инструментом для такого анализа. Они позволяют в ходе одного эксперимента выявлять множественную экспрессию нескольких тысяч клеточных РНК, ответственных за реакцию организма человека на различного рода патологию [24, 37, 42, 43, 45]. Одним из первых работ в этом направлении было создание биочипов, с помощью которых выявляется множественная экспрессия генов иммунной системы, т.е. исследуется формирование иммунного ответа при вирусной инфекции, а также механизмы гибели инфицированной клетки и особенности индуцированной вирусами патологии. Например, изучая на инфицированной цитомегаловирусом культуре фибробластов кожи человека множественную экспрессию генов этих клеток, было показано, что этот вирус достоверно изменяет (увеличивает или уменьшает) экспрессию 258 генов [45]. В другой работе было выявлено, что действие основательницы на перевиваемую культуру клеток человека (HeLa) приводит к активации экспрессии 66 генов клетки и к репрессии 267 генов [27]. А. Вант-Воут с соавт. (2003 г.) исследовали эк-

спрессию 271 гена клеток человека в условиях инфицирования их вирусом гриппа типа А, ВИЧ, а также под действием интерферона и теплового шока. Оказалось, что каждое воздействие по-разному отражается на экспрессии данных генов. В то же время обнаружено сходство в регуляции экспрессии ряда генов при инфекции клеток вирусом гриппа и под влиянием интерферона, что указывает на важность интерферонового ответа при заражении данным вирусом [43]. Подобные же биочипы можно использовать как мощный инструмент для анализа функционирования генов не только в системе *in vitro*, но и в живом организме в зависимости от физиологических и патологических состояний [19]. Так, например, К. Бигер с соавт. (2001) в течение 14 недель прижизненно изучали экспрессию многочисленных генов в печени шимпанзе, инфицированной вирусом гепатита С и болеющей гепатитом в острой форме. Материала игольной биопсии было достаточно для выделения суммарной мРНК и его анализа на биочипе, содержащем кДНК набора генов человека [21].

На сегодня экспрессионные биочипы также завоевали себе признание в онкологии. Диагностика экспрессионных профилей раковых клеток является чрезвычайно перспективным, такие исследования позволяют достаточно успешно идентифицировать, например, геномные транслокации, имеющие прогностическое значение при лейкозах. На основании экспрессионного профиля опухолевых клеток можно сделать выводы о перспективах применения той или иной химиотерапии, что широко применяется в случае ряда лейкозов и опухолей молочной железы. Экспрессионные биочипы применяются для диагностики и других видов рака [29, 32, 40, 41].

Как видим, биочиповые технологии являются чрезвычайно многообещающей для использования в диагностической практике в целях идентификации, типирования инфекционных агентов и выявления причин возникновения различных неинфекционных заболеваний. В перспективе ожидается создание микроматриц для одновременного выявления большинства известных инфекционных агентов (вирусов, бактерий, простейших и т.п.). Другими методами проведение такого экспресс-анализа невозможно. Понимая это, группа научных сотрудников Института эпидемиологии и микробиологии ГУ НЦМЭ и Лимнологического института СО РАН взялась за разработку диагностического биочипа для одновременного анализа в образце возбудителей трех клещевых инфекции различной природы (вирусной и бактериальной). В 2006 г. была подана заявка на участие в конкурсе инновационных проектов по Иркутской области и наш проект по биочипам получил финансовую поддержку из областного фонда по инновациям (№ 05-50-392/6).

Наш проект «Разработка диагностической биочиповой тест-системы для одновременного выявления возбудителей трех клещевых инфекций: энцефалита, боррелиоза, риккетсиоза» преследу-

ет две основные цели: технологическая разработка биочипа с новыми характеристиками поверхностного носителя (мембраны) олигонуклеотидов и разработка множественного (мультиплексного) одновременного ПЦР-анализа возбудителей трех выше указанных инфекций различной генетической природы. Такой подход был выбран не случайно. Во-первых, биочипы, используемые сегодня в диагностике многих заболеваний по технологии производства являются сложными, требуют особо жестких, стерильных заводских условий (используется робототехника), необходимо дорогое оборудование при выявлении результатов анализа и поэтому они еще очень дороги для широкого использования в диагностической практике. Во-вторых, диагностика возбудителей нескольких инфекций требует отдельного анализа носителя каждой инфекции, что является затратным как по времени, так и по финансам на каждый анализ. Для усовершенствования конструкции биочипа в своей разработке мы исходили из принципов упрощения и удешевления технологии создания мембранного покрытия и визуализации результатов диагностики. Для реализации второго положения проекта решили разработать множественный ПЦР-анализ для одновременной идентификации возбудителей трех инфекций с различной генетической природой. Возбудители клещевых инфекций были выбраны обоснованно, так как, во-первых, эти инфекции на сегодня являются одним из наиболее проблемных и быстро прогрессирующих, во-вторых, носители этих инфекций по своей генетической природе различны (у вируса клещевого энцефалита — РНК, а у боррелиозов и риккетсиозов ДНК структуры). При этом носители этих инфекций бывают одновременно в организме клеща и при укусе могут попасть в организм человека. Поэтому, ранняя одновременная диагностика этих инфекций в клеще или в организме человека является очень важным и эффективным как в предотвращении заболеваний, так и в удешевлении и ускорении диагностических процедур. Создание подобного инструмента экспресс-диагностики позволит использовать его для более широкого внедрения в медицинскую практику.

Нам удалось разработать нанокompозитное мембранное покрытие с оригинальной поверхностной структурой [20]. За счет создания «холмистой» функционализирующей поверхностной структуры была повышена иммобилизационная плотность олигонуклеотидов на мембране на два порядка, по сравнению с существующими аналогами. Это позволило усилить в тех же пропорциях флуоресцентный сигнал с чипа, что дало возможность фиксировать его посредством обычного УФ-трансиллюминатора. В ходе разработки самой мембраны также были применены недорогостоящие химические реагенты и упрощен процесс полимеризации на твердых поверхностях, что удешевило технологию разрабатываемого биочипа. Работа над проектом продолжается, и коллектив разработчиков надеется, что будет создан биочип,

который станет точным, надежным и доступным инструментом для диагностики клещевых инфекций и послужит прообразом биочипов для диагностики возбудителей других инфекционных заболеваний.

Как я, так и мои коллеги по разработке биочиповой тест-системы выражаем свою искреннюю благодарность Администрации губернатора Иркутской области за финансовую поддержку научных разработок в области высоких технологий. Весьма признательны директору ГУ «Научный центр медицинской экологии» ВСНЦ СО РАМН, член-корреспонденту РАМН, профессору Колесниковой Л.И., директору Института эпидемиологии и микробиологии ГУ НЦМЭ ВСНЦ СО РАМН, академику РАМН, заслуженному деятелю науки РФ, профессору Савченкову М.Ф., директору Института медицины труда и экологии человека ГУ НЦМЭ ВСНЦ СО РАМН, члену корреспонденту РАМН, профессору Руквишникову В.С., д.м.н. Шурыгиной И.А. (ИЭМ) за понимание важности фундаментальных исследований на стыке нанобиотехнологии и медицины, за постоянную поддержку и содействие в ходе реализации проекта.

Работа выполнена при финансовой поддержке Администрации губернатора Иркутской области по программе бюджетного финансирования инновационных проектов (распоряжение губернатора Иркутской области от 22 июня 2006 г. № 280-р) (инновационный проект № 05-50-392/6).

ЛИТЕРАТУРА

1. Академик Андрей Мирзабеков о новых профессиях биочипов и менеджменте в науке // Российская газета. — 08.01.2003. Источник публикации: www.rg.ru.
2. Баранов В.С. Молекулярная медицина: молекулярная диагностика, превентивная медицина и генная терапия / В.С. Баранов // Молекуляр. биол. — 2000. — Т. 34. — № 4. — С. 684—695.
3. Баранов В.С. Новые молекулярно-генетические подходы в профилактике, диагностике и лечению наследственных и мультифакториальных заболеваний / В.С. Баранов, Э.К. Айламазян // Мед. академ. журн. — 2001. — Т. 3. — С. 33—34.
4. Гаврилова Е.В. Мультиплексный ПЦР-анализ для видоспецифичной экспресс-идентификации ортопоксвирусов / Е.В. Гаврилова, И.В. Бабкин, С.Н. Щелкунов // Молекул. генетика, микроб. и вирусол. — 2003. — № 1. — С. 45—52.
5. Грядунов Д.А. Идентификация штаммов *Mycobacterium tuberculosis* с одновременным определением их лекарственной устойчивости методом гибридизации на олигонуклеотидных микрочипах / Д.А. Грядунов, В.М. Михайлович, С.А. Лапа и др. // Молекул. генетика. — 2003. — Т. 4. — С. 24—27.
6. Дементьева Е.И. Белковые микрочипы. Анализ экспрессии рекомбинантного барстара / Е.И. Дементьева, А.Ю. Рубина, А.А. Стомахин и др. // Докл. акад. наук. — 2003. — Т. 393. — № 1. — С. 116—120.

7. Колчинский А.М. Микрочипы на основе трехмерных ячеек геля: история и перспективы / А.М. Колчинский, Д.А. Грядунов, Ю.П. Лысов и др. // Молекуляр. биология. — 2004. — Т. 38. — № 1. — С. 5–16.
8. Крылов А. Биологические микрочипы: будущее медицины / А. Крылов // 2004. — http://bio.fizteh.ru/abiturs/bio_chip.html.
9. Лысов Ю.П. Определение нуклеотидной последовательности ДНК гибридизацией с олигонуклеотидами. Новый метод / Ю.П. Лысов, В.Л. Флорентьев, А.А. Хорлин, и др. // Докл. АН СССР. — 1988. — Т. 303. — С. 1508–1511.
10. Ляхович В.В. Фармакогенетика сегодня / В.В. Ляхович, В.А. Вавилин // Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике. — 2003. — Новосибирск: Альфа-Виста, 2003. — 252 с.
11. Михеев М.В. Видовая идентификация ортопоксвирусов на олигонуклеотидных микрочипах / М.В. Михеев, С.А. Лапа, С.Н. Щелкунов и др. // Вопросы вирусол. — 2003. — Т. 48, № 1. — С. 4–9.
12. Михейкин А.Л. Краситель с низкой специфичностью к нуклеотидной последовательности ДНК: применение для оценки количества олигонуклеотидов, иммобилизованных в ячейках биологических микрочипов / А.Л. Михейкин, А.В. Чудинов, А.И. Ярошук и др. // Молекул. биология. — 2003. — Т. 37, № 6. — С. 1061–1070.
13. Наномир / <http://www.nanoworld.org>.
14. Петренко Ю.М. Нанотехнологии и будущее медицины / Ю.М. Петренко // Знание — сила. — 2006. — № 10. — С. 63–67.
15. Пул Ч.П. мл. Нанотехнологии / Ч.П. Пул мл., Ф.Дж. Оуэнс. — М.: Техносфера, 2004.
16. Расторгуев С.М. Lux — биосенсоры для обнаружения ионов мышьяка / С.М. Расторгуев, Г.Б. Завильгельский // Биотехнология. — 2001. — Т. 2. — С. 77–82.
17. Рудинский Н.И. Разработка биологических микрочипов для выявления мутаций устойчивости ВИЧ-1 к ингибиторам протеазы и результаты их применения / Н.И. Рудинский, В.М. Михайлович, М.Ю. Донников и др. // Вопр. вирусологии. 2004. — № 6. — С. 10–15.
18. Сайт по ДНК-чипам / <http://dna.pynny.ru/russian/main.html>.
19. Фесенко Д.О. Альгинатный гелевый микрочип для наблюдения в реальном времени внутриклеточных процессов в бактериальных и дрожжевых клетках / Д.О. Фесенко, Т.В. Наседкина, А.В. Чудинов и др. // Молекуляр. биология. — 2005. — Т. 39, № 1. — С. 96–102.
20. Annenkov V.V. Functionalized nanocomposite coating of a glass surface for oligonucleotide immobilization / V.V. Annenkov, A.S. Levina, E.N. Danilovtseva, et.al. // Russ. Jour. of Bioorganic Chemistry. — 2006. — Vol. 32. — № 5. — P. 460–467.
21. Bigger C.B. DNA microarray analysis of chimpanzee liver during acute resolving hepatitis C virus infection / C.B. Bigger, K.M. Brasky, R.E. Lanford // J. Virology. — 2001. — Vol. 75. — P. 7059–7066.
22. Collins F.S. Implications of the Human Genome Project for medical science / F.S. Collins, V.A. McKusick // JAMA. — 2001. — Vol. 285. — P. 540–544.
23. Drmanac R. Process for obtaining genome by hybridization and oligonucleotide tests / R. Drmanac, R. Crkvenjakov // Yugoslav Patent Application YU0057087A. — 1990.
24. Eisen M.B. DNA arrays for analysis of gene expression / M.B. Eisen, P.O. Brown // Methods Enzymol. — 1999. — Vol. 303. — P. 179–205.
25. Elnifro E.M. Multiplex PCR: Optimization and application in diagnostic virology / E.M. Elnifro, A.M. Ashshi, R.J. Cooper, P.E. Klapper // Clin. Microbiol. Rev. — 2000. — Vol. 13. — P. 559–570.
26. Gryadunov D.A. Detection of Bacillus anthracis using multiplex PCR on the oligonucleotide biochip / D.A. Gryadunov, V.M. Mikhailovich, A.N. Noskov et al. // Dokl. Biochem. Biophys. — 2001. — Vol. 381. — P. 384–386.
27. Guerra S. Cellular gene expression survey of vaccinia virus infection of Human HeLa cells / S. Guerra, L.A. Lopez-Fernandez, A. Pascual-Montano et al. // J. Virol. — 2003. — Vol. 77. — P. 6493–6506.
28. Haugland R.P. In: Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals / R.P. Haugland // Molecular Probes Inc. — 1996. — 163 p.
29. Hayes D.N. Gene expression profiling reveals reproducible human lung adenocarcinoma subtypes in multiple independent patient cohorts / D.N. Hayes, S. Monti, G.J. Parmigiani // Clin. Oncol. — 2006. — Vol. 24. — P. 5079–5090.
30. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome // Nature. — 2001. — Vol. 409. — P. 860–921.
31. Khorlin A. An oligonucleotide matrix hybridization approach to DNA sequencing / A. Khorlin, K. Khrapko, I. Ivanov // Nucl. Acids Res. — 1991. — Vol. 24. — P. 191–192.
32. Lonning P.E. Genomics in breast cancer — therapeutic implications / P.E. Lonning, T. Sorlie, A.L. Borresen-Dale // Nat. Clin. Pract. Oncol. — 2005. — Vol. 2(1). — P. 26–33.
33. Mikhailovich V. Identification of rifampin-resistant Mycobacterium tuberculosis strains by hybridization, PCR, and ligase detection reaction on oligonucleotide microchips / V. Mikhailovich, S. Lapa, D. Gryadunov et al. // J. Clinical Microbiol. — 2001. — Vol. 39. — P. 2531–2540.
34. Mirsabekov A. Emerging arraybased technologies in proteomics. / A. Mirsabekov, A. Kolchinsky // Curr. Opin. Chem. Biol. — 2002. — Vol. 6. — P. 70–75.
35. Peltonen L. Dissecting human genome in the postgenomic era / L. Peltonen, V.A. McKusick // Science. — 2001. — Vol. 291. — P. 1224–1229.
36. Rubina A.Yu. Hydrogel drop microchips containing immobilized oligonucleotides and DNA: their

properties and two new efficient methods for large-scale production / A.Yu. Rubina, S.V. Pankov, E.I. Dementieva et al. // *Analyt. Biochem.* — 2003. In press.

37. Schena M. Quantitative monitoring of gene expression patterns with complementary DNA microarray / M. Schena, D. Shalon, E.W. Davis, P.O. Brown // *Science.* — 1995. — Vol. 270. — P. 467–470.

38. Shalon D. A DNA microarray system for analyzing complex DNA samples using two-color fluorescent probe hybridization / D. Shalon, S.J. Smith, P.O. Brown // *Genome Res.* — 1996. — Vol. 6. — P. 639–645.

39. Southern E.M. DNA microarrays. History and overview / E.M. Southern // *Methods Mol. Biol.* 2001. — Vol. 170. — P. 1–15.

40. Sreekumar A. Using protein microarrays to study cancer / A. Sreekumar, A.M. Chinnaiyan // *Biotechniques. Suppl.* — 2002. — P. 46–53.

41. Stegmaier K. Genomic approaches in acute leukemia / K. Stegmaier // *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* — 2006. — Vol. 19(2). — P. 263–268.

42. Van Dam R.M. Gene expression analysis with universal n-mer arrays / R.M. Van Dam, S.R. Quake // *Genome Res.* — 2002. — Vol. 12. — P. 145–152.

43. Vant Wout A.B. Cellular gene expression upon human immunodeficiency virus type1 infection of CD4+ -T-cell lines / A.B. Vant Wout, G.K. Lehrman, S.A. Mikheeva et al. // *J. Virol.* — 2003. — Vol. 77. — P. 1392–1402.

44. Venter J.C. The sequence of the human genome / J.C. Venter, M.D. Adams, E.W. Myers et al. // *Science.* — 2001. — Vol. 291. — P. 1304–1351.

45. Zhu H. Cellular gene expression altered by human cytomegalovirus: Global monitoring with oligonucleotide arrays / H. Zhu, J.-P. Cong, G. Mamtora et al. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 1998. — Vol. 95. — P. 14470–14475.