



Программа курса:

Генная инженерия и биотехнология
составитель профессор Л.И. Патрушев

Предмет генной инженерии. Основоположники генной инженерии: В. Арбер, Д. Натанс, Х. Смит, П. Берг, У. Гилберт, Ф. Сэнгер. Их вклад в развитие данного направления исследований

Основные приемы очистки нуклеиновых кислот. Их электрофоретическое и хроматографическое разделение. Метод аффинной хроматографии мРНК на олиго(dT)-целлюлозе. Капиллярный электрофорез. Электрофорез в импульсном электрическом поле. Выделение метафазных хромосом с помощью проточной цитометрии.

Ферменты рестрикции и модификации нуклеиновых кислот. Классификация систем рестрикции-модификации. Рестриктазы типа II – основной инструмент генной инженерии. Их номенклатура. Типы сайтов рестрикции. Ферменты класса III. Формы концов ДНК, образующихся под действием рестриктаз. Изошизомеры. Гетерошизомеры. Изменение специфичности действия рестриктаз в неоптимальных условиях. Изменение концов рестрикционных фрагментов ДНК. Их «затупление»; использование линкеров и адаптеров. Использование ДНК-метиляз и урацил-ДНК-гликозилаз в генной инженерии. ДНК-РНК-лигазы. Механизм реакции, осуществляемой T4-ДНК-лигазой. ДНК-зависимые ДНК-полимеразы. Реакции, осуществляемые этими ферментами: синтез ДНК на ДНК-матрицах, пирофосфоролиз, 3'- и 5'-корректирующие экзонуклеазные активности, flap-активность ДНК-полимераз. Термостабильные ДНК-полимеразы. ДНК-полимераза I *E coli* и ее фрагмент Кленова. Методы введения меченых нуклеотидов в ДНК. Ник-трансляция. РНК-зависимые ДНК-полимеразы (обратные транскриптазы). Синтез кДНК обратными транскриптазами. Обратные транскриптазы вируса миелобластома птиц и вируса лейкоза

мышей Молони (MMLV). Использование термостабильных ДНК-полимераз для синтеза кДНК. Три стратегии синтеза кДНК: со случайными праймерами, олиго-дЕ-праймерами и специфическими праймерами. Другие ферменты, используемые в генной инженерии: терминальные трансферазы, полинуклеотидкиназы, щелочные фосфатазы, экзо- и эндонуклеазы.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Устройство современного амплификатора. Компоненты реакционной смеси, необходимые для проведения ПЦР. Свойства Taq-ДНК-полимеразы. Факторы, влияющие на точность синтеза ДНК и возможности ее повышения. Специфичность и эффективность ПЦР. ПЦР с «горячим стартом». Асимметричная ПЦР. Множественная ПЦР (Multiplex PCR). «Гнездовая» ПЦР (Nested PCR). Амплификация больших участков ДНК с высокой точностью (Long PCR). Иммуно-ПЦР. Случайная амплификация полиморфных последовательностей (метод RAPD). ПЦР *in situ*. Эмульсионная ПЦР. ПЦР в реальном времени. Устройство амплификатора для ПЦР в реальном времени. Порог числа циклов. Принцип действия зондов: Taq-Man, зондов, основанных на FRET, «молекулярных маяков», праймеров типа «Скорпион».

Этапы клонирования ДНК. Понятие вектора и его емкости. Плазмидные векторы. Свойства бактериальных плазмид, используемые при конструировании векторных молекул: способность к автономной репликации, контроль числа копий, консервативность размера, группы совместимости. Плазмиды серии pBR как основа для конструирования плазмидных векторов. Фагмиды. Клонирование без лигирования вектора и вставки. Векторы для прямого клонирования продуктов ПЦР. Векторы на основе хромосомы фага λ . инсерционные векторы и векторы с замещением. Способы упаковки рекомбинантной ДНК в фаговые частицы. Космиды и фазмиды. Принципы конструирования искусственных хромосом. Сверхемкие векторы YAC, BAC и PAC. Искусственные хромосомы животных и человека. Интегрирующие и челночные (бинарные) векторы. Конструирование экспрессирующих векторов и их функционирование. Факторы, оказывающие влияние на эффективность экспрессии рекомбинантных генов в бактериальных клетках: транскрипция, трансляция, стабильность рекомбинантных РНК и белков, тельца включения. Очистка рекомбинантных белков с использованием аффинных аминокислотных последовательностей. Векторы для переноса ДНК в клетки животных и растений. Трансформация хлоропластов и их использование в биотехнологии.

Способы введения рекомбинантных ДНК в клетки: биологические, химические, физические и механические методы. Природная и искусственная компетентность бактериальных клеток. Трансформация и трансфекция бактериальных клеток. Электропорация. Способы введения ДНК в культивируемые клетки животных. Перенос

генов с помощью вирусов. Перенос генов, опосредованный клеточными рецепторами. Создание микроотверстий в клеточных мембранах с помощью лазера. Микроинъекции. Бомбардировка клеток микрочастицами. Трансфекция клеток, опосредованная фосфатом кальция. Использование ДЭАЭ-декстрана и липосом.

Клонотеки генов. Способы их получения. Понятие о репрезентативности клонотеки. Клонотеки геномной ДНК и кДНК. Случайные и упорядоченные клонотеки. Поиск последовательностей в клонотеках генов. Использование меченых зондов: гомологичные и гетерологичные зонды. Обратная трансляция. Использование антител для отбора клонов в экспрессирующих клонотеках. Клонирование *in silico*. Позиционное клонирование. Повторный скрининг клонотек и субклонирование рекомбинантных ДНК.

Системы экспрессии рекомбинантных генов. Грамотрицательные бактерии. Клетки дрожжей как экспрессирующие системы. Системы экспрессии, основанные на культуре клеток животных. Клетки с искусственно нарушенной проницаемостью внешних мембран. Бесклеточные белоксинтезирующие системы.

Белковая инженерия. Два основных направления исследований в белковой инженерии: рациональный дизайн белковых молекул и их направленная эволюция. Основные этапы проектирования новых белков и ферментов. Методы направленного мутагенеза. Получение делеций и вставок. Мутагенез с использованием олигонуклеотидов: метод Т.А. Кункеля; метод ПЦР с перекрывающимися праймерами; мегапраймеры в направленном мутагенезе; получение нескольких мутаций в последовательных раундах ПЦР. Мутагенез с использованием нонсенс-супрессоров. Химико-ферментативный синтез в создании полусинтетических полипептидов: лигирование синтезированных белков. Сплайсинг и транс-сплайсинг белков в лигировании пептидов.

Направленная эволюция белков. Опыты С. Спигельмана по репликации Q β -РНК *in vitro*. Комбинаторные клонотеки последовательностей нуклеотидов. Методы введения случайных мутаций: химический мутагенез; синтез ДНК с ошибками. Случайное объединение гомологичных и негомологичных участков генов: случайное объединение ДНК фрагментированных генов одного семейства; процесс ступенчатого удлинения олигомеров; рекомбинирование фрагментов генов и белков, не зависимое от гомологии. Методы отбора белков с требуемыми свойствами. Понятие молекулярного дисплея: фаговый дисплей; клеточный дисплей; рибосомный дисплей и мРНК-дисплей. N-Гибридные системы в исследовании белков. Дрожжевая дигибридная система оценки белок-белковых взаимодействий (Y2H); бактериальные дигибридные системы (B2H). Моногибридные (Y1H) и тригибридные (Y3H) дрожжевые системы. Исследование белок-

белковых взаимодействий с использованием тандемной аффинной очистки и тандемной масс-спектрометрии.

Подходы к исследованию структурно-функциональной организации генома. Геномика как новое направление исследований в постгеномную эру. Функциональная геномика. Генетические и физические карты генома. Построение генетических карт сцепления. Семейный генетический анализ сцепления. Гибридизация соматических клеток. Использование хромосомных aberrаций и синтении для построения карт сцепления. Сегрегация генов, индуцированная облучением (радиационные гибриды). Цитогенетический и псевдогенетический анализ структуры генома. Флуоресцентная, в том числе, многоцветная гибридизация *in situ*. Сравнительная геномная гибридизация. Физические карты низкого разрешения: хромосомные карты; EST-маркеры (маркеры экспрессирующихся последовательностей) и их использование для построения карт кДНК. Физические карты генома высокого разрешения. Две стратегии построения карт высокого разрешения: картирование сверху вниз и картирование снизу вверх. Концепция STS-маркеров (сайты, привязанные к последовательностям). Рестрикционный анализ. «Прогулки и прыжки» по хромосомам. Стратегия и тактика секвенирования больших геномов. Общая схема строения генома человека (основные типы кодирующих и некодирующих последовательностей; общее количество генов в геноме); SNP-маркеры, их ассоциация с наследственными заболеваниями и методы поиска. ДНК-диагностика и генотипирование. Использование минисателлитных последовательностей для идентификации личности человека.

Исследование экспрессии генов на уровне транскрипции. Транскриптом и необходимость его изучения. Виды РНК, кодируемых геномом эукариот. Северный блоттинг. Защита от действия РНКаз. Дифференциальный дисплей (DD). Анализ репрезентативных различий РНК (RDA). Серийный анализ экспрессии генов (SAGE). Супрессорная вычитающая гибридизация. Обратный Северный блоттинг. Использование микроматриц и микрочипов нуклеиновых кислот для крупномасштабного профилирования экспрессии генов. Два подхода к конструированию микроматриц – применение кДНК и олигонуклеотидов; секвенирование ДНК на микрочипах.

Изменение уровней экспрессии генов с использованием нуклеиновых кислот. Антисмысловые РНК и олигонуклеотиды. Природные антисмысловые РНК. Механизм ингибирующего действия антисмысловых нуклеиновых кислот: участие РНКазы H, дезаминирование остатков аденина расплетающим ферментом; РНК-интерференция. Использование аналогов нуклеотидов для повышения стабильности и эффективности действия антисмысловых олигонуклеотидов. Триплекс-формирующие олигонуклеотиды и

их использование в биологии. Квадруплексы нуклеиновых кислот. Пептидо-нуклеиновые кислоты (ПНК), их применение в качестве зондов, а также ингибиторов транскрипции и трансляции. Закрытые (замкнутые) нуклеиновые кислоты (LNA).

Рецепторная и ферментативная активность нуклеиновых кислот. Олигонуклеотидные аптамеры и методы их получения. Нуклеозимы: рибозимы и дезоксирибозимы. Природные РНК, обладающие нуклеазной активностью. Искусственные рибозимы-эндонуклеазы. Этапы создания нуклеозимов, обладающих РНК-лигазной активностью. Минизимы и максизимы. Аптазимы. Подходы к использованию нуклеозимов для лечения вирусных и онкологических заболеваний. Использование рибозимов для создания фенокопий. РНК-центрический взгляд на происхождение жизни.

Феномен трансгенеза. Необходимость получения трансгенных животных и растений. Три основных способа получения трансгенных животных: прямая инъекция ДНК в пронуклеусы оплодотворенных яйцеклеток; использование эмбриональных стволовых клеток (ES); применение рекомбинантных вирусов для заражения эмбриональных клеток зародыша. Векторы, используемые для доставки трансгенов в организм млекопитающих: ретровирусные и аденовирусные векторы, а также векторы на основе аденоассоциированных вирусов. Факторы, оказывающие влияние на экспрессию трансгенов в организме трансгенных животных. Направленная активация и инактивация генов *in vivo*: генные нок-ин'ы и нокауты. Классический подход к получению генных нокаутов: использование гомологичной рекомбинации. Современные методы инактивации генов с применением энхансерных, генных и промоторных ловушек. Системы сайт-специфической рекомбинации Cre/Lox. Регулируемая экспрессия трансгенов в организме животных: Бинарные системы регулируемой экспрессии трансгенов в организме животных на примере тетрациклиновой системы. Условные мутации у животных. Подходы к генотерапии наследственных и приобретенных заболеваний.

Трансгенные растения. Эмбриональные стволовые клетки растений. Основные этапы получения трансгенных растений. Культура каллуса и суспензионные культуры клеток. Получение протопластов. Фитогормоны, используемые для регенерации растений. Соматический эмбриогенез. Методы используемые для трансформации разных объектов растительного происхождения. Селектируемые маркеры, используемые в генной инженерии растений. Системы контроля экспрессии рекомбинантных генов у растений. Агробактериальная инфекция. Тi-плазмиды и Т-ДНК. Опины и их роль в инфекции. Структура сигнальных молекул поврежденного растения, активирующих перенос Т-ДНК. Векторы на основе Тi-плазмид: «обезоруженные плазмиды, коинтеграторы и бинарные векторы. Этапы получения трансгенных растений с помощью агробактерий.

Трансформация целых растений (in planta). Трансгенные хлоропласты. Преимущества использования хлоропластов для экспрессии трансгенов. Получение транспластомных одноклеточных водорослей. Необходимость оптимизации кодонов.

Клонирование многоклеточных организмов. Этапы клонирования. Методы введения ядер соматических клеток в яйцеклетки. Причины низкой эффективности клонирования. Стадии клонирования млекопитающих вручную. Два подхода к клонированию человека: терапевтическое и репродуктивное клонирование. Невозможность создания идентичных копий (клонов) многоклеточных организмов.

Список литературы

Общая литература.

1. Л.И. Патрушев. Экспрессия генов. М. Наука, 2000
2. Л.И. Патрушев. Искусственные генетические системы. Т.1. Генная и белковая инженерия. М. Наука. 2004.
3. С.Н. Щелкунов. Генетическая инженерия. Сибирское университетское издательство. Новосибирск. 2004.
4. И.Ф. Жимулев. Общая и молекулярная генетика. Сибирское университетское издательство. Новосибирск. 2003.
5. Dale J.W., von Schantz M. From Genes to Genomes: Concepts and Applications of DNA Technology. 2002 John Wiley & Sons, Ltd.
6. Primrose S.B, Twyman R.M., Old R.W. Principles of Gene Manipulation: Sixth Edition.

Полимеразная цепная реакция

1. van Pelt-Verkuil E., van Belkum A., Hays J.P. Principles and Technical Aspects of PCR Amplification. Springer. 2008.
2. PCR Primer Design. Methods Mol. Biol., vol. 402, (Yuryev A. Ed.), Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2007.
3. PCR Methods in Foods. (J. Maurer, ed.). Springer, 2006

Клонирование ДНК, экспрессия рекомбинантных генов

1. Новое в клонировании ДНК. Методы. Под редакцией Д. Гловера. М. Мир, 1989.

2. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии: Молекулярное клонирование. Пер. с англ. - М.: Мир, 1984.
3. Enzymes of Molecular Biology. Methods Mol. Biol., Vol 16. Humana Press Inc., Totowa, NJ, 1993.
4. Wong D.W.S. The ABCs of Gene Cloning. 2006. Springer.
5. E. coli Plasmid Vectors (Casali N. and Preston A. Eds.) Methods Mol. Biol., Vol. 235, Humana Press Inc., Totowa, NJ
6. E. coli Gene Expression Protocols. Methods Mol. Biol., vol. 205, (Vaillancourt P.E. Ed.) Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2002.
7. Baneyx F. (1999) Recombinant protein expression in *Escherichia coli*. Curr. Opin. Biotechnol. 10, 411–421.
8. Recombinant Gene Expression: Reviews and Protocols, Second Edition (P. Balbás and A. Lorence, Eds) Methods in Molecular Biology, vol. 267: Humana Press Inc., 2004.

Анализ геномов и экспрессии генов

1. Kozian D.H., Kirschbaum B.J. (1999) Comparative gene-expression analysis. Trends Biotechnol. 17, 73-78.
2. Steina J., Liang P. (2002) Differential display technology: a general guide. Cell. Mol. Life Sci., 59, 1235–1240.
3. Bier F.F., von Nickisch-Rosenegk M. (2008) DNA Microarrays. Adv. Biochem. Engin. Biotechnol., 109, 433–453
4. Huang X., Li Y., Niu Q., Zhang K. (2007) Suppression Subtractive Hybridization (SSH) and its modifications in microbiological research. Appl. Microbiol. Biotechnol. 76, 753–760.
5. Mardis E.R. (2007) The impact of next-generation sequencing technology on genetics. Trends Genet. 24, 133-141.
6. Integrated Biochips for DNA Analysis (R.H. Liu and A.P. Lee., eds), Springer, 2007.

Антисмысловые технологии, аптамеры, рибозимы и ДНКзимы

1. Lee K.L., Roth C.M. (2003) Antisense technology in molecular and cellular bioengineering. Curr. Opin. Biotechnol. 14, 505–511.
2. Aigner A. (2007) Applications of RNA interference: current state and prospects for siRNA-based strategies *in vivo*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 76, 9–21.
3. Pellestor F., Paulasova P. (2004) The peptide nucleic acids (PNAs): introduction to a new class of probes for chromosomal investigation. Chromosoma 112: 375–380.

4. Guntaka R.V., Varma B.R., Weber K.T. (2003) Triplex-forming oligonucleotides as modulators of gene expression. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 35 22–31.
5. Nissenbaum E.L., Radovic-Moreno A.F., Wang A.Z., Langer R., Farokhzad O.C. (2008) Nanotechnology and aptamers: applications in drug delivery. *Trends Biotechnol.*, 26, 442-449.
6. Egli M., Pallan P.S. (2007) Insights from crystallographic studies into the structural and pairing properties of nucleic acid analogs and chemically modified DNA and RNA oligonucleotides. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 36, 281–305.
7. Wilson D.S., Szostak J.W. (1999) In vitro selection of functional nucleic acids. *Annu. Rev. Biochem.* 68.611-647.
8. Joyce G.F. (2004) directed evolution of nucleic acid enzymes. *Annu. Rev. Biochem.* 73, 791–836.
9. Doherty E.A., Doudna J.A. (2000) Ribozyme structures and mechanisms. *Annu. Rev. Biochem.* 69, 597-615.
10. Lilley D.M.J. (2003) The origins of RNA catalysis in ribozymes. *Trends Biochem. Sci.*, 28, 495-501.
11. Emilsson G.M., Breaker R R. (2002) Deoxyribozymes: New activities and new applications. *Cell. Mol. Life Sci.* 59, 596–607.

Белковая инженерия. Исследование белок-белковых взаимодействий.

1. Leisola M., Turunen O. (2007) Protein engineering: opportunities and challenges. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 75, 1225–1232.
2. Bolon D.N., Voigt C.A., Mayo S.L. (2002) De novo design of biocatalysts. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 6, 125–129.
3. Directed Molecular Evolution of Proteins: or How to Improve Enzymes for Biocatalysis. (S. Brakmann and K. Johnsson Eds), 2002, Wiley-VCH Verlag GmbH.
4. Fox R.J., Huisman G.W. (2007) Enzyme optimization: moving from blind evolution to statistical exploration of sequence–function space. *Trends Biotechnol.* 26, 132-138.
5. Williams G.J., Nelson A.S., Berry A. (2004) Directed evolution of enzymes for biocatalysis and the life sciences. *Cell. Mol. Life Sci.* 61 3034–3046.
6. Xia Y., Levitt M. (2004) Simulating protein evolution in sequence and structure space. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 14. 202–207.
7. Suter B., Kittanakom S. Stagljar I. (2008) Two-hybrid technologies in proteomics research. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 19:316–323.

8. Gingras A.-C., Gstaiger M., Raught B., Aebersold R. (2007) Analysis of protein complexes using mass spectrometry. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.*, 8, 645-654.
9. Lee S.Y., Choi J.H., Xu Z. (2003) Microbial cell-surface display. *Trends Biotechnol.* 21, 45-52.
10. Petty N.K., Evans T.J., Fineran P.C., Salmond G.P.C. (2006) Biotechnological exploitation of bacteriophage research. *Trends Biotechnol.* 25, 8-15.

Трансгенные животные. Регуляция экспрессии трансгенов. Условно-летальные мутации. Клонирование организмов.

1. *Mammalian and Avian Transgenesis – New Approaches* (S. Pease and C. Lois Eds.) Springer, 2006.
2. *Genetic Engineering in Livestock. New Applications and Interdisciplinary Perspectives.* (M. Engelhard, K. Hagen, M. Boysen Eds.), Springer, 2009.
3. *Conditional Mutagenesis: An Approach to Disease Models. Handbook Exp. Pharmacol.*, 178, 2007.
4. *Rabbit Biotechnology: Rabbit Genomics, Transgenesis, Cloning and Models* (L.-M. Houdebine and J. Fan, eds.) Springer, 2009.
5. *Gene Targeting Protocols* (E. Kmiec, Ed.) *Methods Mol. Biol.*, vol. 133: Humana Press,
6. Houdebine L.-M. *Animal Transgenesis and Cloning.* John Wiley & Sons, Ltd., 2003.
7. Prosser H., Rastan S. (2003) Manipulation of the mouse genome: a multiple impact resource for drug discovery and development. *Trends Biotechnol.*, 21, 224-232.
8. Hadjantonakis A.-K., Dickinson M.E., Fraser S.E., Papaioannou V.E. (2003) Technicolour transgenics: Imaging tools for functional genomics in the mouse. *Nature Rev. Genet.*, 4, 613-626.
9. Vajta G. (2007) Handmade cloning: the future way of nuclear transfer? *Trends Biotechnol.*, 25, 250-253.
10. Fulka J., Fulka H., St John J., Galli C., Lazzari G., Lagutina I., Fulka J., Loi P. (2008) Cybrid human embryos – warranting opportunities to augment embryonic stem cell research. *Trends Biotechnol.*, 26, 469-474.
11. Jaenisch R., Young R. (2008) Stem Cells, the Molecular Circuitry of Pluripotency and Nuclear Reprogramming. *Cell*, 132, 567–582.

Трансгенные растения.

1. Handbook of Maize. Genetics and Genomics. (Bennetzen J.L., Hake S. Eds.) Springer, 2009.
2. Plant Gene Transfer and Expression Protocols. Methods Mol. Biol., 49, (H. Jones Ed.) Humana Press Inc ,
3. Neumann K.-H., Kumar A., Imani J. Plant Cell and Tissue Culture - A Tool in Biotechnology. Basics and Application. Springer, 2009.
4. Functional Organization of the Plant Nucleus. (I. Meier, Ed.), Springer, 2009.
5. Cell and Molecular Biology of Plastids. (R. Bock, Ed.), Topics Curr. Genet., 19, 2007.
6. The Chloroplast. Interactions with the Environment. (Sandelius A.S., Aronsson H., Eds.) Springer, 2009.
7. Tzfira T., Citovsky V. (2006) Agrobacterium-mediated genetic transformation of plants: biology and biotechnology. Curr. Opin. Biotechnol., 17, 147–154.
8. Daniell H., Khan M.S., Allison L. (2002) Milestones in chloroplast genetic engineering: an environmentally friendly era in biotechnology. Trends Plant Sci., 7, 84-91.
9. Bock R. (2007) Plastid biotechnology: prospects for herbicide and insect resistance, metabolic engineering and molecular farming. Curr. Opin. Biotechnol., 18, 100–106.
10. Dafny-Yelin M., Levy A., Tzfira T. (2008) The ongoing saga of Agrobacterium–host interactions. Trends Plant Sci., 13, 102-105.

Рекомбинантные антитела.

1. Therapeutic Antibodies. (Chernajovsky Y., Nissim A., Eds.), Handbook Exp. Pharmacol., vol. 181, 2008.
2. Logtenberg T. (2007) Antibody cocktails: next-generation biopharmaceuticals with improved potency. Trends Biotechnol., 25, 390-394.
3. Hanson C.V., Nishiyama Y., Paul S. (2005) Catalytic antibodies and their applications. Curr. Opin. Biotechnol., 16, 631–636.
4. Jain M., Kamal N., Batra S.K. (2007) Engineering antibodies for clinical applications. Trends Biotechnol., 25, 307-316.
5. Stocks M. (2005) Intrabodies as drug discovery tools and therapeutics. Curr. Opin. Chem. Biol., 9, 359–365.
6. Arbabi-Ghahroudi M., Tanha J., MacKenzie R. (2005) Prokaryotic expression of antibodies. Cancer Metastasis Rev., 24, 501–519.

7. Fernandez L.A. Prokaryotic expression of antibodies and affibodies. (2004) *Curr. Opin. Biotechnol.*, 15, 364–373.
8. Dübel S. (2007) Recombinant therapeutic antibodies. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 74, 723–729.
9. Cardinale A., Biocca S. (2008) The potential of intracellular antibodies for therapeutic targeting of protein-misfolding diseases. *Trends Mol. Med.*, 14, 373-380.

Флуоресцентные белки.

1. Verkhusha V.V., Lukyanov K.A. (2004) The molecular properties and applications of *Anthozoa* fluorescent proteins and chromoproteins. *Nature Biotechnol.*, 22, 289-296.
2. March J.C., Rao G., Bentley W.E. (2003) Biotechnological applications of green fluorescent protein. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 62, 303–315.
3. Chudakov D.M., Lukyanov S., Lukyanov K.A. (2005) Fluorescent proteins as a toolkit for *in vivo* imaging. *Trends Biotechnol.*, 23, 605-613.
4. Ashby M.C., Ibaraki K., Henley J.M. (2004) It's green outside: tracking cell surface proteins with pH-sensitive GFP. *Trends Neurosci.*, 27, 257-261.
5. Müller-Taubenberger A., Anderson K.I. (2007) Recent advances using green and red fluorescent protein variants. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 77, 1–12.
6. Mathur J. (2007) The illuminated plant cell., *Trends Plant Sci.*, 12, 506-513.