

Перетолчина Н.П.^{1,2}, Борисенко А.Ю.¹, Джиоев Ю.П.¹, Злобин В.И.¹

Сравнительный анализ CRISPR-систем штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* IP32953 и IP31758 *

¹ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)

² ФКУЗ Иркутский ордена научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (664047, г. Иркутск, ул. Триллсера, 78, Россия)

Псевдотуберкулёз сохраняет свою актуальность для здравоохранения России и многих зарубежных стран. Для мониторинга популяций *Y. pseudotuberculosis* перспективно использование CRISPR-типирования, обладающего, как показано при изучении *Y. pestis*, высокой разрешающей способностью.

Цель настоящего исследования: охарактеризовать и сравнить CRISPR-локусы штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* IP32953 и IP31758, вызывающих, соответственно, классическую псевдотуберкулёзную инфекцию и дальневосточную скарлатиноподобную лихорадку.

Материалы и методы. Проанализированы полногеномные последовательности штаммов *Y. pseudotuberculosis* IP32953 и IP31758 (NC_006155 и NC_009708 соответственно). Поиск, идентификация и анализ CRISPR-систем выполнены с использованием онлайн-приложений CRISPROne, CRISPRDetect и CRISPRTarget.

Результаты. В геноме исследуемых штаммов обнаружены CRISPR-Cas системы, которые включают в себя один набор cas-генов и несколько локусов, значительно удалённых друг от друга. В геноме штамма *Y. pseudotuberculosis* IP32953 три локуса: YP1, находящийся в непосредственной близости от cas-генов, YP2 и YP3. CRISPR/Cas-система *Y. pseudotuberculosis* IP31758 представлена только двумя кассетами – YP1 и YP2. CRISPR-системы исследуемых штаммов не имеют одинаковых спейсеров. CRISPR/Cas-системы исследованных штаммов отличаются количеством CRISPR-локусов, их спейсерным составом и структурой cas-белков.

Заключение. Полученные результаты определяют перспективу использования CRISPR-локусов в качестве специфических молекулярных маркеров штаммов при изучении внутривидового разнообразия и эволюции *Y. pseudotuberculosis*.

Ключевые слова: CRISPR-Cas система, псевдотуберкулёз, *Y. pseudotuberculosis*

Для цитирования: Перетолчина Н.П., Борисенко А.Ю., Джиоев Ю.П., Злобин В.И. Сравнительный анализ CRISPR-систем штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* IP32953 и IP31758. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 54-58, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.8.

Comparative Analysis of CRISPR-Cas System Structures of *Yersinia pseudotuberculosis* IP32953 and IP31758

Peretolchina N.P.^{1,2}, Borisenko A.Y.¹, Dzhioev Yu.P.¹, Zlobin V.I.¹

¹ Irkutsk State Medical University (ul. Krasnogo Vosstaniya 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

² Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor (ul. Trilissera 78, Irkutsk 664047, Russian Federation)

Background. Pseudotuberculosis is still relevant problem in medical science and public health of Russia and other countries. Typing of *Y. pseudotuberculosis* strains by their CRISPR systems is a perspective tool for monitoring of *Yersinia* populations as was shown in *Y. pestis*.

Aims. Here we describe and compare CRISPR-Cas systems of *Yersinia pseudotuberculosis* strains IP32953 and IP31758 causing classic pseudotuberculosis and Far-East scarlet-like fever (FESLF) respectively.

Materials and methods. Complete genomes of *Y. pseudotuberculosis* IP32953 and IP31758 (NC_006155 and NC_009708 respectively) were obtained from NCBI Nucleotide Database. Search, identification, and analysis of CRISPR systems were carried out by online-tools CRISPROne, CRISPRDetect, and CRISPRTarget.

Results and discussion. Analyzed strains have CRISPR-Cas systems that include one set of cas-genes and arrays situated at the long distances from each other. We defined three CRISPR arrays in *Y. pseudotuberculosis* IP32953 by the combination of program methods. CRISPR-Cas system of this strain consist of array YP1 located near cas-genes, arrays YP2 and YP3. CRISPR-Cas system of *Y. pseudotuberculosis* IP31758 includes two arrays – YP1 and YP3. CRISPR systems do not share similar spacers. CRISPR systems of the analyzed strains differ in CRISPR loci and cas-protein structures that can be used as specific marks of analyzed strains.

Conclusions. We suggest that acquisition of certain spacers may play a role in evolution and divergence of *Y. pseudotuberculosis* strains.

Key words: CRISPR-Cas system, pseudotuberculosis, *Y. pseudotuberculosis*

For citation: Peretolchina N.P., Borisenko A.Yu., Dzhioev Yu.P., Zlobin V.I. Comparative analysis of CRISPR-Cas system structures of *Yersinia pseudotuberculosis* IP32953 and IP31758. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 54-58, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.8.

* Статья опубликована на основании доклада на III Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, октябрь, 2018).

CRISPR-Cas система (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-CRISPR-associated proteins, короткие регулярно расположенные палиндромные повторы/CRISPR-ассоциированные белки) является специфическим адаптивным иммунитетом бактерий, действие которого направлено против мобильных генетических элементов (МГЭ). CRISPR-система состоит из CRISPR-локусов и cas-генов. CRISPR-локусы представлены набором коротких палиндромных повторов (21–47 п. н.), разделённых штамм-специфическими спейсерными последовательностями (спейсеры). Данные последовательности комплементарны участкам нуклеиновых кислот фагов и плазмид, с которыми спейсеры способны взаимодействовать и индуцировать разрушение генетического материала МГЭ (рис. 1).

При этом cas-гены, расположенные в непосредственной близости от кассеты, необходимы для синтеза белков, участвующих в трёх этапах «иммунного ответа» бактерий: адаптации, транскрипции и процессинге CRISPR РНК (сrРНК) и интерференции [13] (см. рис. 1).

Во время первичной инфекции бактериофага CRISPR-система с помощью белков cas1 и cas2 вырезает и вставляет небольшой фрагмент ДНК бактериофага в начало CRISPR-кассеты бактерии со стороны лидерной последовательности. При вторичном инфицировании бактерии бактериофагом, содержащим интегрированный фрагмент ДНК, запускается транскрипция CRISPR-локуса и синтезируется молекула пре-crРНК, состоящая из всех спейсерных последовательностей и повторов. В процессе созревания пре-crРНК разрезается на фрагменты, включающие в себя одну спейсерную последовательность и фланкирующие её повторы. Зрелая crРНК связывается с комплексом белков, образуя Cascade, эффекторный CRISPR-ассоциированный комплекс противовирусной

защиты. Образованная структура узнаёт протоспейсерную последовательность в геноме бактериофага и активирует нуклеазы, которые разрушают молекулу ДНК бактериофага [7].

Установлено, что CRISPR-система иерсиний включает в себя от одного до трёх локусов и один набор cas-генов, состоящий из универсального для всех типов систем гена *cas1* и типоспецифических (IF) генов *cas3f*, *cas8f*, *cas5f*, *cas7f* и *cas6f* [1, 9] (рис. 2).

Представители рода *Yersinia* часто используются исследователями в качестве объекта для изучения меж- и внутривидовой эволюции, так как включают большое число разнообразных патогенных и непатогенных видов: возбудителя особо опасной инфекции – чумы, *Yersinia pestis*; возбудителей псевдотуберкулёза и кишечного иерсиниоза *Yersinia pseudotuberculosis* и *Yersinia enterocolitica*, и ряд непатогенных видов иерсиний. Полидетерминантная природа патогенных свойств *Y. pseudotuberculosis* обуславливает многообразие клинических форм инфекции. В своих предыдущих публикациях К.А. Koskela et al. (2015) и Т. Seecharran et al. (2017) охарактеризовали CRISPR-локусы *Y. pseudotuberculosis* и предположили возможные механизмы приобретения CRISPR/Cas системы и её роль в эволюции бактерии [8, 12].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Сравнение CRISPR-систем двух штаммов, выделенных на различных территориях от пациентов с разными клиническими проявлениями псевдотуберкулёза, и определение специфических различий в спейсерном составе и структуре cas-белков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучены полногеномные последовательности штаммов *Y. pseudotuberculosis* IP329353 и IP31758 из базы данных NCBI Nucleotide (NC_006155 и NC_009708

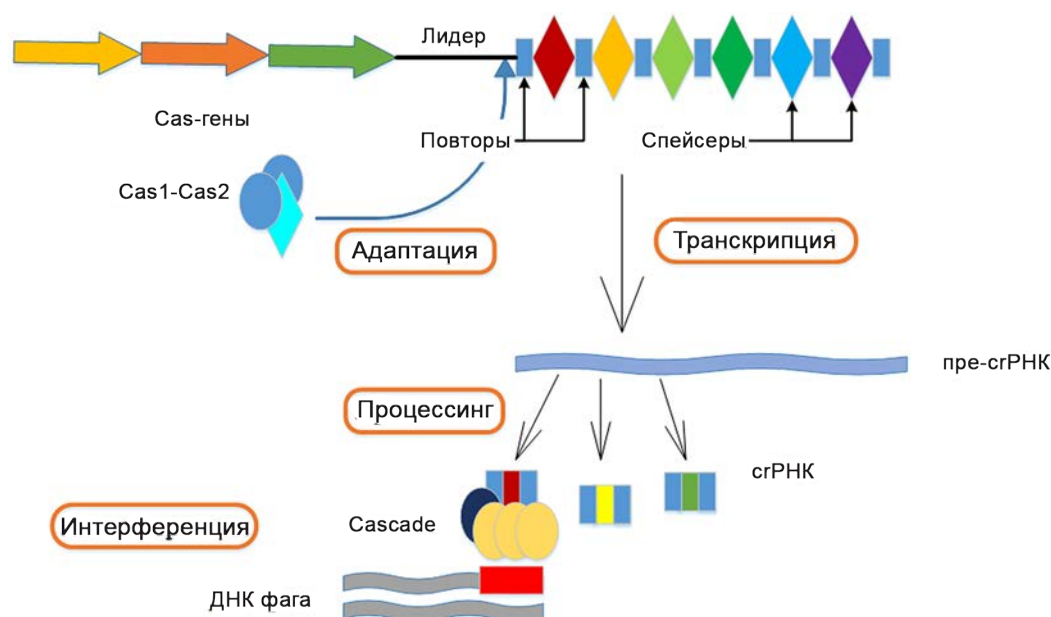


Рис. 1. Структура и принцип функционирования CRISPR-Cas системы первого класса.

Fig. 1. Structure and mechanism of immunity of class 1 CRISPR-Cas system.

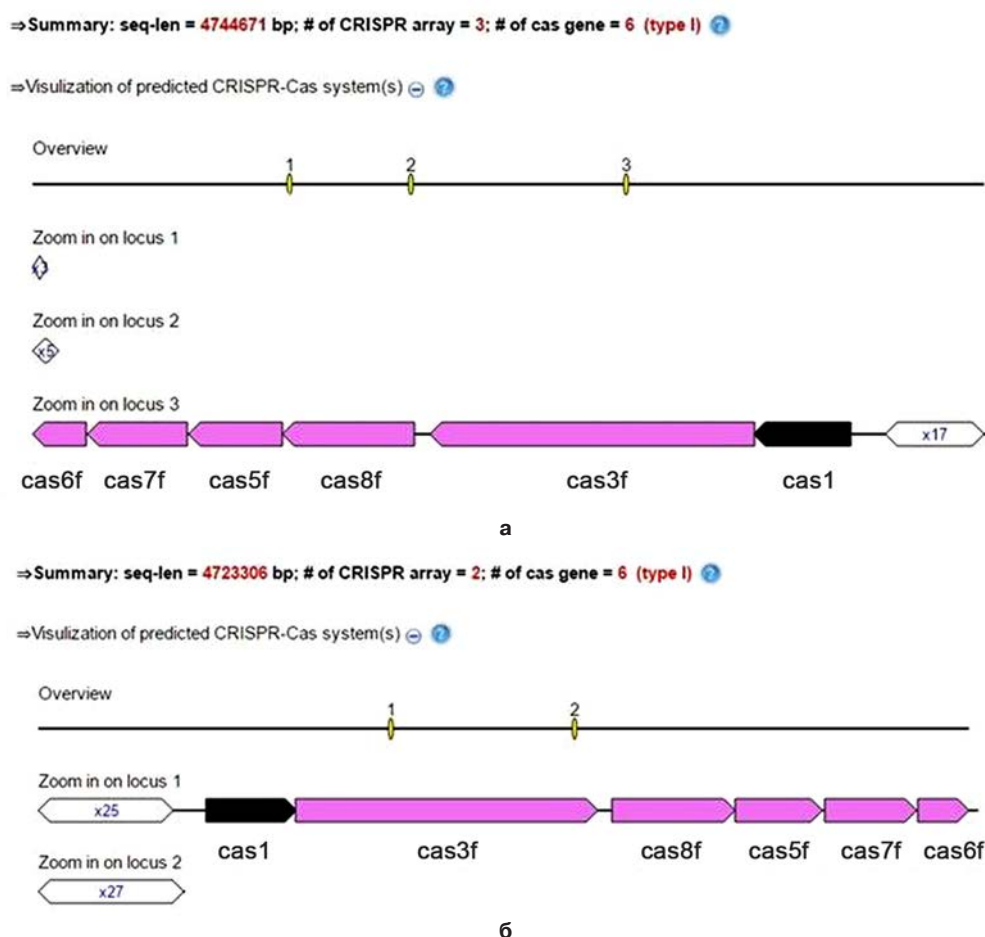


Рис. 2. Структура CRISPR-Cas системы *Y. pseudotuberculosis*: **а** – штамм IP32953; **б** – штамм IP31758.

Fig. 2. Structure of CRISPR-Cas system of *Y. pseudotuberculosis*: **a** – strain IP32953; **b** – strain IP31758.

соответственно) и проанализированы с помощью пакета программ. Для идентификации CRISPR-локусов и cas-генов использованы онлайн-приложения CRISPROne (<http://omics.informatics.indiana.edu/CRISPRone>) и CRISPRDetect (http://brownlabtools.otago.ac.nz/CRISPRDetect/predict_crispr_array.html) [4, 14]. Скрининг фагов и плазмид через спейсерные структуры проводился при помощи онлайн-приложения CRISPRTarget (http://bioanalysis.otago.ac.nz/CRISPRTarget/crispr_analysis.html) [3]. Использованы следующие критерии для отбора протоспейсерных последовательностей: совпадение нуклеотидов между спейсером и простоспейсером не менее 90 %; наличие PAM “GG” со стороны 3'-конца (3'-end PAM-GG-IF). Определение профаговых последовательностей в геномах бактерий проводилось с использованием онлайн-приложения PHASTER (<http://phaster.ca>) [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ

В геномах штаммов *Y. pseudotuberculosis* IP32953 и IP31758 обнаружены CRISPR-Cas системы типа I_F. CRISPR-системы представлены шестью cas-генами и кассетами, количество которых различно: штамм IP32953 имеет три локуса – YP1, YP2 и YP3, штамм IP31758 – два, YP1 и YP3 (см. рис. 2). Количество повторов и спейсеров в локусах различно, не было обнаружено гомологичных спейсерных последовательно-

стей в локусах данных штаммов. Последовательности повторов, наоборот, полностью идентичны, несмотря на встречаемость замен в повторах в конце кассеты. К. Rougach et al. в 2010 г. показали, что транскрипция кассет начинается с лидерной последовательности, поэтому все CRISPR-фрагменты ориентированы со стороны лидерной последовательности [11, 13].

CRISPR-Cas система *Y. pseudotuberculosis* IP32953

В геноме штамма *Y. pseudotuberculosis* IP32953 обнаружено три локуса, удалённых друг от друга. Локус YP1 (2965418–2964428) расположен в непосредственной близости от cas-генов и состоит из 17 повторов, разделённых 16 спейсерами; локусы YP2 (1284328–1284476) и YP3 (1891010–1891277) небольшие по длине и включают в себя 2 и 4 спейсера соответственно. Скрининг гомологичных последовательностей в геномах бактериофагов и плазмид показал соответствия 8 спейсеров с бактериальными и плазмидными последовательностями. Как правило, в месте локализации протоспейсера в геноме бактерии обнаружен профаг (табл. 1).

CRISPR-Cas система *Y. pseudotuberculosis* IP31758

В геноме штамма *Y. pseudotuberculosis* IP31758 обнаружено только два локуса – YP1 и YP3. Локус YP1 (1786721–1788193) также локализован в непосредственной близости от cas-генов, локус

**Соответствующие протоспейсерные последовательности спейсерам CRISPR-Cas-системы
Y. pseudotuberculosis IP32953**

Таблица 1

Corresponding protospacers and spacers of CRISPR-Cas system of *Y. pseudotuberculosis* IP32953

Table 2

Спейсер	PAM-3'	Протоспейсер	Бактериофаг	Совпадение
YP1-1	GG	CP009780 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> PB1/+	NC_022747, Vibrio phage VPUSM 8 (intact)	1,00
YP1-4		CP009801 <i>Yersinia intermedia</i> Y228	NC_016158, Escherichia phage HK639 (intact)	1,00
		CP007448 <i>Yersinia enterocolitica</i> LC20	NC_022749, Shigella phage SfIV (intact)	1,00
		CP009364 <i>Yersinia frederiksenii</i> Y225	NC_019927, Cronobacter phage ENT47670 (intact)	0,97
		CP009997 <i>Yersinia kristensenii</i> Y231	NC_019927, Cronobacter phage ENT47670 (intact)	0,97
YP1-15		CP009792 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> YPIII	NC_005886, Burkholderia phage BcepB1A (questionable)	0,97
	GG	CP007230 <i>Yersinia similis</i> strain 228	NC_005886, Burkholderia phage BcepB1A (questionable)	0,97
YP1-16		CP007230 <i>Yersinia similis</i> strain 228	NC_005886, Burkholderia phage BcepB1A (incomplete)	0,97
YP2-1	GG	NC_009705 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> IP31758 plasmid_153kb		0,91
YP2-2	GG	NZ_CP028488 <i>Yersinia massiliensis</i> strain GTA plasmid unnamed1		0,97
YP3-1	GG	CP013913.1 <i>Serratia fonticola</i> strain GS2	NC_019501, Enterobacteria phage IME10 (intact)	0,94
YP3-4	GG	CP007230 <i>Yersinia similis</i> strain 228	NC_005886, Burkholderia phage BcepB1A (incomplete)	0,97

**Соответствующие протоспейсерные последовательности спейсерам CRISPR-Cas-системы
Y. pseudotuberculosis IP31758**

Таблица 2

Corresponding protospacers and spacers of CRISPR-Cas system of *Y. pseudotuberculosis* IP31758

Table 2

Спейсер	PAM-3'	Протоспейсер	Бактериофаг	Совпадение
YP1-12		CP010067 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> str. PA3606		0,97
YP1-14	GG	CP009786 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> strain 1	NC_003444, Enterobacteria phage SfV (intact)	1,00
	GG	CP009792 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> YPIII	NC_021857, Shigella phage SfII (intact)	1,00
	GG	CP008943 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> ATCC6904	NC_003444, Enterobacteria phage SfV (intact)	1,00
YP1-20	GG	CP009780 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> PB1/+	NC_022747, Vibrio phage VPUSM 8 (intact)	0,97
	GG	CP009712 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> IP32953	NC_022747, Vibrio phage VPUSM 8 (intact)	0,97
YP3-2		CP009364 <i>Yersinia frederiksenii</i> Y225	NC_019927, Cronobacter phage ENT47670 (intact)	0,94
YP3-4	GG	CP010067 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> PA3606	NC_028699, Salmonella phage SEN34 (intact)	1,00
YP3-5	GG	CP009757 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> MD67	NC_005886, Burkholderia phage BcepB1A (questionable)	0,97
YP3-10	GG	CP009792 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> YPIII	NC_022747, Vibrio phage VPUSM 8 (intact)	0,94
YP3-17	GG	CP007230 <i>Yersinia similis</i> strain 228	NC_016160, Escherichia phage HK75 (intact)	1,00
YP3-20	GG	CP009780 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> PB1/+	NC_022747, Vibrio phage VPUSM 8 (intact)	1,00
	GG	CP009781 <i>Yersinia aldovae</i> 670-83	NC_009542, Aeromonas phage phiO18P (intact)	1,00
	GG	CP009792 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> YPIII	NC_022747, Vibrio phage VPUSM 8 (intact)	1,00
	GG	CP007448 <i>Yersinia enterocolitica</i> LC20	NC_022747, Vibrio phage VPUSM 8 (intact)	1,00
	GG	CP009846 <i>Yersinia enterocolitica</i> 8081	NC_022747, Vibrio phage VPUSM 8 (intact)	0,94

YP3 (2726751–2728338) удалён от них. Локус YP2 не удалось идентифицировать программными методами, однако спейсеров в локусах представлено больше: 24 спейсера в локусе YP1 и 26 – в локусе YP3. В результате скрининга протоспейсеров в геномах бактериофагов и плазмид обнаружено 9 соответствий спейсеров с бактериальными и фаговыми последовательностями. Протоспейсеров в плазмидах не обнаружено (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе проанализированы два штамма *Y. pseudotuberculosis*, принципиально различающихся между собой. *Y. pseudotuberculosis* IP32953 выделен на территории Франции, штамм IP31758 – на территории Дальнего Востока России. Оба штамма выделены от больных, но клинические проявления псевдотуберкулёза отличаются по тяжести: штамм IP32953 вызывает типичную картину псевдотуберкулёза с преимущественным поражением желудочно-кишечного тракта; штамм IP31758 является возбудителем дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки (ДСЛ) [6].

Основная роль CRISPR-Cas-систем – защита бактерий от внедрения чужеродных МГЭ. Поэтому 72 спейсера исследованных систем проанализированы с целью определения оригинальных протоспейсерных последовательностей. В результате выявлено всего 8 и 9 совпадений протоспейсер-спейсер систем штаммов *Y. pseudotuberculosis* IP32953 и *Y. pseudotuberculosis* IP31758 соответственно. Невозможность идентификации большинства спейсеров может быть объяснена отсутствием секвенированных последовательностей в базе данных NCBI Nucleotide или частыми точечными мутациями в протоспейсерных последовательностях бактериофагов, которые позволяют им избежать узнавания фрагмента ДНК активным комплексом [5].

Однако отмечено, что спейсеры наиболее часто отбираются CRISPR-системой из консервативных частей фагов, например, фрагменты гена, кодирующего структурный белок хвоста бактериофага (см. табл. 1, 2). В результате при скрининге протоспейсеров в геномах бактериофагов встречаются совпадения не только с оригинальным бактериофагом, но и с другими вирусами, имеющие эту же последовательность ДНК. Данный факт, безусловно, затрудняет определение источника спейсера.

Плазмидные последовательности также могут быть источником спейсеров CRISPR-систем. В частности, локус YP2 штамма *Y. pseudotuberculosis* IP32953 состоит из 2 спейсеров, один из которых на 91 % совпадает с фрагментом плазмиды pVM82 *Y. pseudotuberculosis* IP31758. Данная плазида кодирует несколько факторов патогенности (система секреции *icm/dot*, *tox*-оперон), участвующих в развитии инфекционного процесса [6, 10]. Возможной причиной приобретения данного спейсера является наличие в геноме плазмиды гена интегразы бактериофага, который является свидетелем предшествующих явлений горизонтального переноса в плазмидной последовательности. Таким образом, можно предположить, что

приобретение спейсера к данной плазмиде может являться точкой расхождения штаммов иерсиний.

Результаты проведённого исследования являются основой для использования CRISPR-типирования при мониторинге циркулирующих штаммов на отдельных территориях и выявления возможной связи структурно-функциональных характеристик выявленных сайтов CRISPR/Cas-систем с клиническими проявлениями иерсиниозов, обусловленных изучаемыми штаммами.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Перетолчина Н.П., Джигоев Ю.П., Борисенко А.Ю., Воскресенская Е.А., Парамонов А.И., Степаненко Л.А., Колбасеева О.В., Злобин В.И. Биоинформационный анализ CRISPR/Cas системы штамма *Yersinia pseudotuberculosis* IP32953 // *Acta biomedica scientifica*. – 2016. – Т. 1, № 5. – С. 64–67. DOI: 10.12737/23384
2. Peretolchina NP, Dzhigoev YuP, Borisenko AY, Voskresenskaya EA, Paramonov AI, Stepanenko LA, Kolbaseeva OV, Zlobin VI. (2016). Bioinformation analysis of *Yersinia pseudotuberculosis* IP32953 CRISPR/Cas system [Bioinformatsionnyy analiz CRISPR/Cas sistemy shtam-ma *Yersinia pseudotuberculosis* IP32953]. *Acta biomedica scientifica*, 1 (5), 64–67. DOI: 10.12737/23384
3. Arndt D, Grant JR, Marcu A, Sajed T, Pon A, Liang Y, Wishart DS. (2016). PHASTER: a better, faster version of the PHAST phage search tool. *Nucleic Acids Res*, 44 (W1), W16–W21. DOI: 10.1093/nar/gkw387
4. Biswas A, Gagnon JN, Brouns SJ, Fineran PC, Brown CM. (2013). CRISPRTarget: bioinformatic prediction and analysis of crRNA targets. *RNA Biol*, 10 (5), 817–827. DOI: 10.4161/rna.24046
5. Biswas A, Staals RH, Morales SE, Fineran PC, Brown CM. (2016). CRISPRDetect: a flexible algorithm to define CRISPR arrays. *BMC genomics*, 17 (1), 356. DOI: 10.1186/s12864-016-2627-0
6. Datsenko KA, Pougach K, Tikhonov A, Wanner BL, Severinov K, Semenova E. (2012). Molecular memory of prior infections activates the CRISPR/Cas adaptive bacterial immunity system. *Nature Commun*, 3, 945. DOI: 10.1038/ncomms1937
7. Eppinger M, Rosovitz MJ, Fricke WF, Rasko DA, Kokorina G, Fayolle C, Ravel J. (2007). The complete genome sequence of *Yersinia pseudotuberculosis* IP31758, the causative agent of Far East scarlet-like fever. *PLoS Genet*, 3 (8), e142. DOI: 10.1371/journal.pgen.0030142
8. Hille F, Richter H, Wong SP, Bratović M, Ressel S, Charpentier E. (2018). The biology of CRISPR-Cas: backward and forward. *Cell*, 172 (6), 1239–1259. DOI: 10.1016/j.cell.2017.11.032
9. Koskela KA, Mattinen L, Kalin-Mänttari L, Vergnaud G, Gorgé O, Nikkari S, Skurnik M. (2015). Generation of a CRISPR database for *Yersinia pseudotuberculosis* complex and role of CRISPR-based immunity in conjugation. *Environ Microbiol*, 17 (11), 4306–4321. DOI: 10.1111/1462-2920.12816
10. Medina-Aparicio L, Dávila S, Rebollar-Flores JE, Calva E, Hernández-Lucas I. (2018). The CRISPR-Cas system in *Enterobacteriaceae*. *Pathogens Dis*, 76 (1), fty002. DOI: 10.1093/femspd/fty002

10. Nörenberg D, Wieser A, Magistro G, Hoffmann C, Meyer C, Messerer M, Schubert S. (2013). Molecular analysis of a novel Toll/interleukin-1 receptor (TIR)-domain containing virulence protein of *Y. pseudotuberculosis* among Far East scarlet-like fever serotype I strains. *Int J Med Microbiol*, 303 (8), 583-594. DOI: 10.1016/j.ijmm.2013.08.002
11. Pougach K, Semenova E, Bogdanova E, Datsenko KA, Djordjevic M, Wanner BL, Severinov K. (2010). Transcription, processing and function of CRISPR cassettes in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol*, 77 (6), 1367-1379. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2010.07265.x
12. Seecharan T, Kalin-Manttari L, Koskela K, Nikkari S, Dickens B, Corander J, Skurnik M, McNally A. (2017). Phylogeographic separation and formation of sexually discrete lineages in a global population of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Microb Genom*, 3 (10). DOI: 10.1099/mgen.0.000133
13. Westra ER, Buckling A, Fineran PC. (2014). CRISPR-Cas systems: beyond adaptive immunity. *Nature Rev Microbiol*, 12 (5), 317-326. DOI: 10.1038/nrmicro3241
14. Zhang Q, Ye Y. (2017). Not all predicted CRISPR-Cas systems are equal: isolated cas genes and classes of CRISPR like elements. *BMC Bioinformatics*, 18 (1), 92. DOI: 10.1186/s12859-017-1512-4

Сведения об авторах Information about the authors

Перетолчина Надежда Павловна – аспирант кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России; лаборант-исследователь, ФКУЗ Иркутский ордена научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, тел. (3952) 24-30-16; e-mail: nadine1lenz@gmail.com) ● <https://orcid.org/0000-0001-9426-5197>

Peretolchina Nadezhda Pavlovna – Postgraduate at the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Irkutsk State Medical University; Clinical Research Assistant, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор (664003, Irkutsk, ul. Krasnogo Vosstania, 1, tel. (3952) 24-30-16; e-mail: nadine1lenz@gmail.com) ● <https://orcid.org/0000-0001-9426-5197>

Борисенко Андрей Юрьевич – аспирант, ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: 89500720225@mail.ru) ● <https://orcid.org/0000-0001-6094-5864>

Borisenko Andrey Yurievich – Postgraduate, Teaching Assistant at the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Irkutsk State Medical University (e-mail: 89500720225@mail.ru) ● <https://orcid.org/0000-0001-6094-5864>

Джигоев Юрий Павлович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной вирусологии и биотехнологии НИИ биомедицинских технологий, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: alanir07@mail.ru) ● <https://orcid.org/0000-0001-5410-5113>

Dzhigoev Yuri Pavlovich – Candidate of Biological Sciences, Leading Research Officer, Head of the Laboratory of Molecular Virology and Biotechnology, Research Institute of Biomedical Technologies, Irkutsk State Medical University (e-mail: alanir07@mail.ru) ● <https://orcid.org/0000-0001-5410-5113>

Злобин Владимир Игоревич – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии, директор НИИ биомедицинских технологий, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: vizlobin@mail.ru) ● <http://orcid.org/0000-0002-0164-5113>

Zlobin Vladimir Igorevich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of RAS, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Director of the Research Institute of Biomedical Technologies, Irkutsk State Medical University (e-mail: vizlobin@mail.ru) ● <http://orcid.org/0000-0002-0164-5113>