

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. Трилиссера, 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* IP329353 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* IP329353 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 IP31758Peretolchina N.P.^{1,2}, Borisenko A.Y.¹, Dzhioev Yu.P.¹, Zlobin V.I.¹¹ 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* IP329353 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-специфичными 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

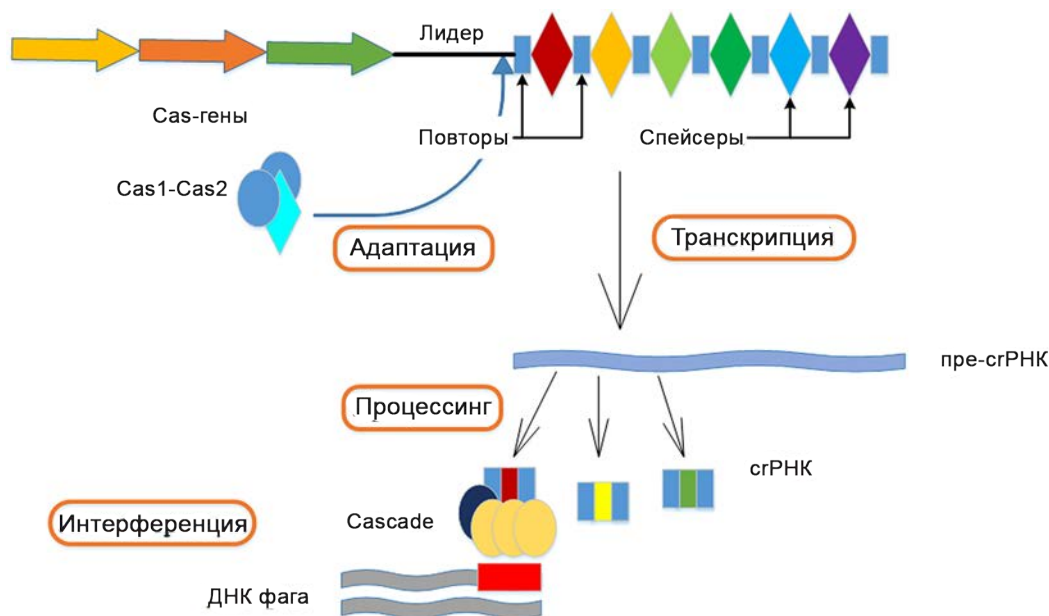


Рис. 1. Структура и принцип функционирования CRISPR-Cas системы первого класса.

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

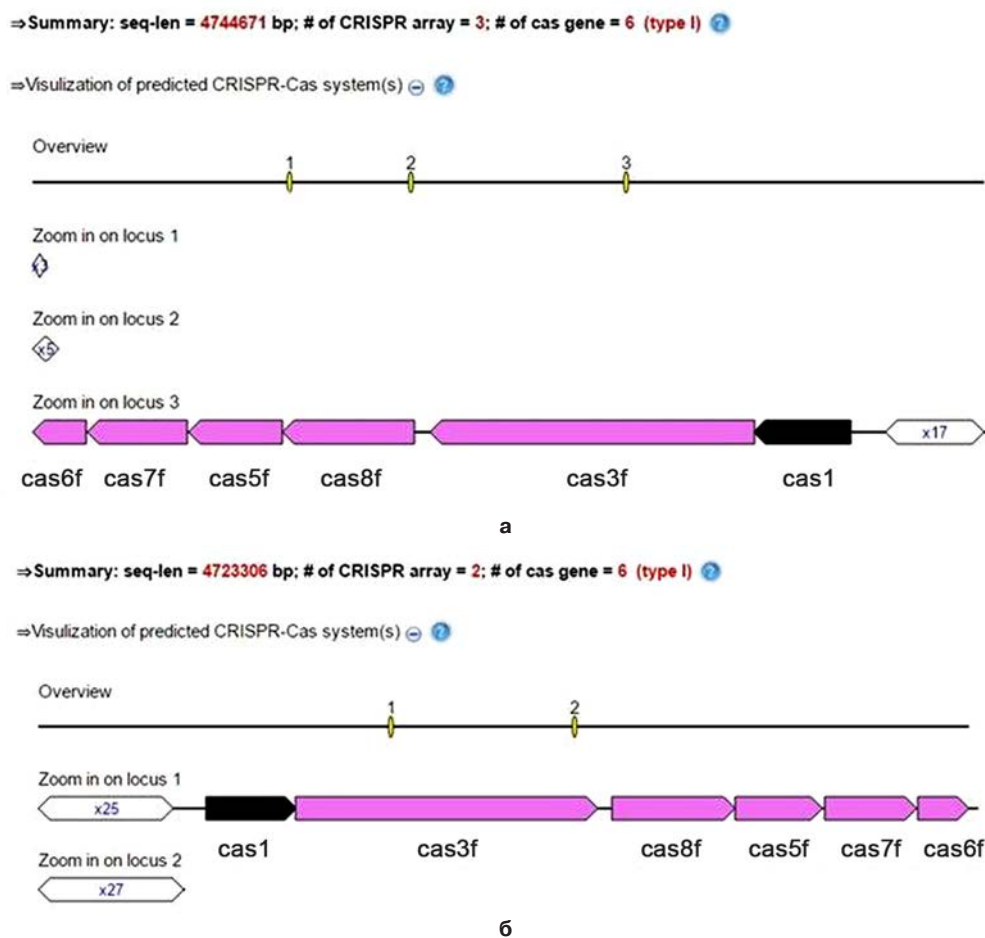


Рис. 2. Структура CRISPR-Cas системы *Y. pseudotuberculosis*: **а** – штамм IP32953; **б** – штамм IP31758.
Fig. 2. Structure of CRISPR-Cas system of *Y. pseudotuberculosis*: **a** – strain IP32953; **b** – strain IP31758.

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 протоспейсером 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 плаزمидах 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 плаزمида 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., Джиоев 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, Dzhioev 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 shtamma *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. Seecharran 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 орденна 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>

Джиев 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>

Dzhioev 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>