

ГЕНЕТИКА, ПРОТЕОМИКА И МЕТАБОЛОМИКА GENETICS, PROTEOMICS AND METABOLOMICS

DOI: 10.29413/ABS.2018-3.5.5

УДК 579.61:616-078 + 575.112

Арефьева Н.А. ¹, Джиоев Ю.П. ², Борисенко А.Ю. ², Чемерилова В.И. ¹, Вятчина О.Ф. ¹,
Секерина О.А. ², Степаненко Л.А. ², Маркова Ю.А. ³, Юринова Г.В. ¹, Саловарова В.П. ¹,
Приставка А.А. ¹, Кузьмина В.А. ¹, Рева О.Н. ⁴, Злобин В.И. ²

Биоинформационный поиск структур CRISPR/Cas-системы в геноме плазмиды pCT281 штамма *Bacillus thuringiensis subsp. chinensis* CT-43 *

¹ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет»
(664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1, Россия)

² ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России
(664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)

³ ФГБУН «Сибирский институт физиологии и биохимии растений» СО РАН
(664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132, Россия)

⁴ Центр биоинформатики и компьютерной биологии,
Кафедра биохимии, генетики и микробиологии, Университет Претории
(Pretoria 0002, Private Bag X20, Hatfield, 0028, South Africa)

Введение. Современные методы биоинформатики позволяют проводить поиск и анализ функционально важных участков в геноме. Одними из таких участков в геноме бактерий являются локусы CRISPR/Cas-систем, выполняющих роль «адаптивной иммунной защиты» от чужеродных нуклеиновых кислот. Поиск и анализ структур CRISPR/Cas-систем в геномах плазмид и фагов предоставляет новую информацию об эволюции данных систем в бактериальных хозяевах.

Цель исследования: поиск структур CRISPR/Cas-систем в геноме плазмиды pCT281 штамма *Bacillus thuringiensis subsp. chinensis* CT-43 при помощи методов биоинформатики.

Материалы и методы. Материалом для исследования являлся геном плазмиды pCT281 штамма *B. thuringiensis subsp. chinensis* CT-43, загруженный из базы данных RefSeq. Для идентификации cas-генов была использована программа MacSyFinder (ver. 1.0.5). Детекция CRISPR-кассет проводилась при помощи трёх приложений: CRISPRFinder, PILER-CR, CRISPR Recognition Tool (CRT). Консенсусная структура повторов получена в WebLogo 3. Результаты и обсуждение. В плазмиде pCT281 был выявлен один локус CRISPR/Cas-системы типа I-C. В данном локусе были идентифицированы две CRISPR-касеты, между которыми расположены последовательности из четырёх cas-генов. В первой CRISPR-кассете зафиксированы последовательности 10 спейсеров размером от 32 до 35 пар нуклеотидов (п. н.) и 11 повторов (32 п. н.). Во второй CRISPR-кассете обнаружены последовательности 5 спейсеров (33–53 п. н.), разделённых шестью повторами по 32 п. н.

Выводы. Используемые биоинформационные методы позволяют эффективно проводить поиск структур CRISPR/Cas-системы в мобильных элементах генома. Наличие CRISPR-кассет и cas-генов в плазмиде pCT281 может свидетельствовать о возможной передаче CRISPR/Cas-системы от бактериальной хромосомы данной плазмиды. Выявленные спейсерные последовательности CRISPR-кассет предоставляют информацию о фагах, с которыми данная бактерия встречалась.

Ключевые слова: CRISPR/Cas-система, *Bacillus thuringiensis subsp. chinensis* CT-43, плаزمида pCT281, методы биоинформатики

Для цитирования: Арефьева Н.А., Джиоев Ю.П., Борисенко А.Ю., Чемерилова В.И., Вятчина О.Ф., Секерина О.А., Степаненко Л.А., Маркова Ю.А., Юринова Г.В., Саловарова В.П., Приставка А.А., Кузьмина В.А., Рева О.Н., Злобин В.И. Биоинформационный поиск структур CRISPR/Cas-системы в геноме плазмиды pCT281 штамма *Bacillus thuringiensis subsp. chinensis* CT-43. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 33–38, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.5.

Bioinformatic Search of CRISPR/Cas System Structures in Genome of pCT281 Plasmid of *Bacillus thuringiensis subsp. chinensis* Strain CT-43

Arefyeva N.A. ¹, Dzhioev Yu.P. ², Borisenko A.Yu. ², Chemerilova V.I. ¹, Vyatchina O.F. ¹,
Sekerina O.A. ², Stepanenko L.A. ², Markova Yu.A. ³, Yurina G.V. ¹, Salovarova V.P. ¹,
Pristavka A.A. ¹, Kuzminova V.A. ¹, Reva O.N. ⁴, Zlobin V.I. ²

¹ Irkutsk State University
(ul. Karla Marksa 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

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

² Irkutsk State Medical University
(ul. Krasnogo Vosstaniya 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

³ Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, SB RAS
(ul. Lermontova 132, Irkutsk 664033, Russian Federation)

⁴ Centre for Bioinformatics and Computational Biology,
Department of Biochemistry, Genetics and Microbiology, University of Pretoria
(Pretoria 0002, Private Bag X20, Hatfield, 0028, South Africa)

Background. CRISPR/Cas systems loci are one of the functionally important patterns in bacterial genome which perform the role of "adaptive immune defense" from foreign nucleic acids. The study of CRISPR/Cas systems structure in genomes of plasmids and phages provide new information about the evolution of this systems in bacterial hosts.

Aims. A search of CRISPR/Cas systems structures in pCT281 plasmid from *Bacillus thuringiensis* subsp. *chinensis* strain CT-43 using bioinformatic methods.

Materials and methods. Search studies using bioinformatics methods were performed with the genome of pCT281 plasmid of *B. thuringiensis* subsp. *chinensis* strain CT-43 from the RefSeq database. To search for the CRISPR/Cas system structure MacSyFinder (ver. 1.0.5) and three combined algorithms were used: CRISPRFinder; PILER-CR; CRISPR Recognition Tool (CRT). The consensus repeat sequence was generated in WebLogo 3.

Results and discussion. In pCT281 plasmid we detected one locus of CRISPR/Cas system of the type I-C which contains 2 CRISPR-cassettes and 4 *cas*-genes located between them. The CRISPR-cassette 1 includes 10 spacers from 32 to 35 bp and 11 repeats 32bp in length. 5 spacers (33–35 bp) separated by 6 repeats 32 bp in length were detected in the CRISPR-cassette 2.

Conclusions. The bioinformatic methods used in this study enable to conduct a search of CRISPR/Cas systems structures in plasmid genomes. The presence of the CRISPR-Cas locus in pCT281 plasmid confirms a possible transfer of this system from the nucleoid to this plasmid. The detected spacers provide information about phages this bacteria was encountered.

Key words: CRISPR/Cas-system, *Bacillus thuringiensis* subsp. *chinensis* CT-43, pCT281 plasmid, bioinformatic methods

For citation: Arefyeva N.A., Dzhioev Yu.P., Borisenko A.Yu., Chemerilova V.I., Vyatchina O.F., Sekerina O.A., Stepanenko L.A., Markova Yu.A., Yurina G.V., Salovarova V.P., Pristavka A.A., Kuzminova V.A., Reva O.N., Zlobin V.I. Bioinformatic Search of CRISPR/Cas System Structures in Genome of pCT281 Plasmid of *Bacillus thuringiensis* subsp. *chinensis* Strain CT-43. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 33-38, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.5.

ВВЕДЕНИЕ

Методы биоинформатики всё шире применяются в различных областях биологии и медицины: при анализе данных высокопроизводительного секвенирования геномов, для предсказания пространственной структуры белков, при изучении фенотипических признаков организмов и т. д. Сегодня для решения конкретной биологической задачи уже рутинными процедурами стали обращение к базам данных нуклеотидных и белковых последовательностей, использование компьютерных программ для обработки биологических данных [7]. Особенно активно ведутся исследования в области фундаментальной природы генетических свойств бактерий [14].

Грамположительные спорообразующие бактерии вида *Bacillus thuringiensis* (Bt) обладают способностью продуцировать инсектицидные белки (также именуемые δ-эндотоксинами или Cгу-токсинами) в виде кристаллических включений. Эти эндотоксины оказались эффективными против многих видов насекомых, являющихся вредителями растений или переносчиками таких болезней человека, как лихорадка денге и малярия. Бактерии вида Bt также обладают уникальными свойствами, обеспечивающими выживание в различных стрессовых условиях, в том числе при встрече с чужеродными вирусными (бактериофагами) и плазмидными агентами [17, 18]. Последнее является особенно интересным, поскольку в хромосоме штаммов Bt, представленных в базах данных CRISPRdb (<http://crispr.u-psud.fr/crispr/CRISPRdatabase.php>) и CRISPI (<http://crispi.genouest.org>), не было найдено системы CRISPR/Cas, являющейся одним из механизмов иммунной

защиты бактерий от чужеродных нуклеиновых кислот [11, 19].

За последние несколько лет были открыты молекулярные механизмы функционирования CRISPR/Cas-систем (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR-associated proteins, или короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами с CRISPR-ассоциированными белками) представляющих собой набор повторяющихся последовательностей (repeat) длиной 21–48 пар нуклеотидов (п. н.), разделённых уникальными сайтами – спейсерами (spacer), комплементарными участкам фагов и плазмид, к которым данная бактерия имеет иммунитет [4, 9, 20]. Функционирование CRISPR-локусов обеспечивается набором *cas*-генов, организованных в адаптационный и эффекторный функциональные модули, кодирующие субъединицы соответствующих комплексов. Адаптационный белковый комплекс добавляет новые спейсеры в CRISPR-кассету. Эффекторный комплекс осуществляет распознавание и уничтожение чужеродных генетических элементов. На основании организации эффекторного комплекса CRISPR/Cas-системы разделяют на два класса, пять типов и шестнадцать подтипов. Первый класс является самым распространённым (около 90 % от всего разнообразия CRISPR/Cas-систем) и включает CRISPR/Cas-системы, имеющие мультибелковый эффекторный комплекс. На основании его сигнатурных субъединиц (Cas3, Cas10, Csf1) первый класс разделён на три типа (Типы I, III, IV). У CRISPR/Cas-систем второго класса (Типы II, V) эффекторный комплекс состоит из одного мультидоменного белка: Cas9 – у типа II, Cpf1 – у типа V [13]. Изучение разноо-

бразия CRISPR-Cas локусов и механизмов их функционирования лежит в основе разработки технологий направленного редактирования геномов прокариот и эукариот [8]. Поиск и анализ структур CRISPR/Cas-систем в геномах плазмид и фагов является новым направлением в исследовании генетической природы формирования и развития данных систем в геноме бактерий.

Целью данной работы был поиск структур CRISPR/Cas-систем в геноме плазмиды pCT281 штамма *Bacillus thuringiensis subsp. chinensis* CT-43 при помощи методов биоинформатики.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования стал геном плазмиды pCT281 (NC_017203) штамма *Bacillus thuringiensis subsp. chinensis* CT-43 (NC_017208.1), загруженный из базы данных RefSeq. Бактериальный штамм был выделен в Китае и классифицирован как новый подвид *B. thuringiensis subsp. chinensis* CT-43 [12]. Его геном представлен кольцевой хромосомой длиной 5 486 830 пар оснований, кодирующих 6 105 белков. В цитоплазме штамма выявлено 10 кольцевых плазмид, самой крупной из которых является плазида pCT281 с размером генома 281 231 пар нуклеотидов (п. н.). В данной плазмиде обнаружено четыре ICP-гена: *cry1Aa3* (CT43_P281270), *cry1Ia14* (CT43_P281271), *cry2Aa9* (CT43_P281278) и *cry2Ab1* (CT43_P281265), – и один вегетативный ген инсектицидного белка *vip3Aa10* (CT43_P281262).

Биоинформационный поиск элементов CRISPR/Cas-систем был проведён с использованием ранее разработанного алгоритма, адаптированного для детекции данных структур в геноме плазмид [1]. Идентификацию CRISPR-ассоциированных генов проводили через белковый профиль исследуемого генома при помощи программы MacSyFinder (ver. 1.0.5), осуществляющей поиск гомологичных последовательностей на базе программных пакетов HMMER (ver. 3.1) и makeblastdb (ver. 2.7.1) [2]. Для детекции и анализа структуры CRISPR-кассет использовали три приложения, основанные на разных алгоритмах поиска: CRISPRfinder; PILER-CR; CRISPR Recognition Tool (CRT) [3, 6, 10]. Выравнивание последовательностей межспейсерных повторов и получение их консенсусной структуры было сделано в приложении WebLogo 3 [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При помощи использованных программных средств в плазмиде pCT281 штамма *Bacillus thuringiensis subsp. chinensis* CT-43 был выявлен один локус CRISPR/Cas-системы, отнесённый к типу I подтипу C. Впервые данный подтип систем был структурно и функционально охарактеризован у *Bacillus halodurans* [15]. Субъединицы адапционного комплекса систем подтипа I-C кодируются генами *cas1*, *cas2*, *cas4*. В состав эффекторного комплекса входят продукты генов *cas3*, *cas5d*, *cas7c*, *cas8c* [13]. Размер найденного CRISPR-Cas локуса составил 9303 п. н. Было обнаружено две CRISPR-касеты, локализованные в позициях 175403–176089 п. н. (CRISPR-

касета 1) и 183063–183424 п. н. (CRISPR-касета 2). Между ними расположена последовательность *cas*-генов: *cas3*, *cas5d*, *cas8c* и *cas7c*. Генов адапционного модуля, обеспечивающего приобретение новых спейсеров, в исследуемой плазмиде обнаружено не было.

В результате программного поиска были выявлены 11 межспейсерных повторов по 32 п. н. в первой CRISPR-кассете. Во второй CRISPR-кассете обнаружено 6 повторов также по 32 п. н. (рис. 1). Между чередующимися повторами в CRISPR-кассете 1 были идентифицированы 10 спейсерных последовательностей с варьирующими размерами длин – от 32 до 35 п. н. В CRISPR-кассете 2 было идентифицировано 5 спейсерных последовательностей (33–35 п. н.) (табл. 1).

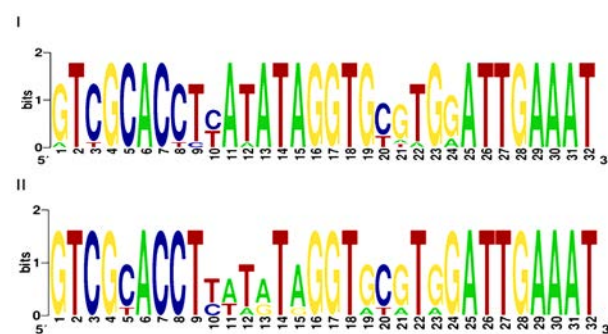


Рис. 1. Консенсусная последовательность повторов в CRISPR-кассете 1 (I) и CRISPR-кассете 2 (II) плазмиды pCT281 штамма *Bacillus thuringiensis serovar chinensis* CT-43.

Fig. 1. The consensus repeat sequence in the CRISPR-cassette 1 (I) and CRISPR-cassette 2 (II) of pCT281 plasmid from *Bacillus thuringiensis serovar chinensis* strain CT-43.

В 2017 году была опубликована работа L.E. Navas et al. по анализу организации плазмиды pFR260 (KX258624.1) из дикого штамма *Bacillus thuringiensis* INTA Fr7-4. В данной плазмиде был обнаружен локус CRISPR/Cas-системы типа I-C. В локусе найдено 3 CRISPR-касеты и 9 *cas*-генов: 3 гена адапционного модуля (*cas1*, *cas2*, *cas4*) и 6 генов эффекторного модуля (*cas3*, *cas8c*, *cas5d* и три копии гена *cas7c*), характерных для систем данного типа. CRISPR-касета 2 содержит 10 повторов, разделённых 9 спейсерами по 33 п. н. Описание структуры повторов и спейсеров в данной кассете, а также информация об организации двух других CRISPR-кассет не были приведены. В работе также сообщалось о том, что гомологичная последовательность *cas*-генов была найдена в плазмидах ещё двух штаммов: *pBT1850294* (NZ_CP014284.1) из *B. thuringiensis* Bt185 и *pVTHD521-5* (NZ_CP010111.1) из *B. thuringiensis serovar indiana* HD521 [16]. Однако структуры CRISPR-локусов в этих плазмидах не были описаны. Опубликованные данные по анализу структур CRISPR/Cas-систем в других плазмидах из *B. thuringiensis* к настоящему времени отсутствуют в известных базах данных научных публикаций.

Согласно полученным результатам, отработанный биоинформационный алгоритм позволяет проводить поиск и анализ CRISPR/Cas-систем в геномах плазмид и фагов, связанных со штаммами вида *B. thuringiensis*, а также рода *Bacillus*. Наличие в плазмиде pCT281 структур CRISPR/Cas-системы

Таблица 1
Нуклеотидные последовательности спейсеров в CRISPR-кассетах плазмиды pCT281 штамма *Bacillus thuringiensis* serovar *chinensis* CT-43

Table 1
The spacer sequences in the CRISPR-cassettes of pCT281 plasmid from *Bacillus thuringiensis* serovar *chinensis* strain CT-43

№ п/п	Позиция	Спейсер	Размер спейсера
CRISPR-кассета 1			
1	175435–175468	ACAAGATACGAGAATTTAATGACGTCACCCACAT	34
2	175501–175534	TATTGTTACACCTTTAGAGTATCCGAGTAAAAAA	34
3	175567–175601	ACAATGGGAAAGTGTAGTTATGCACGTTTTAAA	35
4	175634–175665	GAAGATAGTAGAAGAAATCAAAAAAAGTGTAT	32
5	175698–175730	TTTGTTGCTCCAGTCGTTATGATCGTCTTTGCA	33
6	175763–175795	TAGGAGTTATTAATGGCTTTAGATGTTAGACCA	33
7	175828–175861	TACCTCGGGTTTATATTATCTGGAATGCCATA	34
8	175894–175926	TTTGCAACTAGCTCAATTGTTTTCCGTTTTCA	33
9	175959–175992	TACCTCGGGTTTATATTATCTGGAACGCTCATA	34
10	176025–176057	ATAATATCACAATTTTGACAAAATTCAGTCATG	33
CRISPR-кассета 2			
1	183095–183129	CATTGGCGGTAGTTCATAAGTAACAACAATGGAT	35
2	183162–183195	ATGATATTCAAAGAGCCTGAACAAGTGAATCGA	34
3	183228–183262	ATAATTGAATATGAGCTGCCCGGATGGAAGGGAC	35
4	183295–183327	ATGGAAATGGAACGTTCTTACGGATCAAAAGAA	33
5	183360–183392	ATGTAGCTGGTATTAATGCTTTGTGAAAAACAA	33

может свидетельствовать о возможной передаче функции защиты бактерии от фаговой и плазмидной ДНК данной плазмиде. Также можно предположить, что CRISPR/Cas-система может горизонтально передаваться при помощи плазмид другим видам бактерий. Полученные данные о наличии локусов CRISPR/Cas-системы в плаزمиде важны для понимания роли мобильных элементов генома в эволюции штаммов *Bacillus thuringiensis*. Данная информация является важной для разработки платформы таргетной фаговой терапии инфекционных заболеваний, вызываемых патогенными типами бактерий.

ВЫВОДЫ

1. Используемые биоинформационные методы и разработанный алгоритм поиска позволяют выявлять структуры CRISPR/Cas-систем в геномах бактерий, а также в геномах плазмид и фагов.

2. Наличие CRISPR-кассет и *cas*-генов в плазмиде pCT281 может свидетельствовать о возможной передаче локуса CRISPR/Cas-системы от бактериальной хромосомы данной плазмиде, а также о горизонтальной передаче CRISPR/Cas-систем в бактериальных сообществах.

3. Расшифрованные спейсерные последовательности CRISPR-кассет в исследуемой плазмиде предоставляют информацию о протоспейсерах фагов и чужеродных плазмид, к которым данный бактериальный штамм имеет устойчивость.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

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. – № 5. – С. 64–68.

Peretolchina NP, Dzhioev YuP, Borisenko AYU, Voskresenskaya EA, Paramonov AI, Stepanenko LA, Kolbaseeva OV, Zlobin VI. (2016). Bioinformatics analysis of *Yersinia pseudotuberculosis* IP32953 CRISPR/Cas system. *Acta biomedica scientifica*, (5), 64-68.

2. Abby SS, Neron B, Menager H, Touchon M, Rocha EPC. (2014). MacSyFinder: A program to mine genomes for molecular systems with an application to CRISPR-Cas systems. *PLoS One*, 9 (10), 110726. DOI: 10.1371/journal.pone.0110726.

3. Bland C, Ramsey TL, Sabree F, Lowe M, Brown K, Kyrpides NC, Hugenholtz P. (2007). CRISPR recognition tool (CRT): a tool for automatic detection of clustered regularly interspaced palindromic repeats. *BMC Bioinformatics*, 8 (209), 1-8. DOI: 10.1186/1471-2105-8-209.

4. Bolotin A, Quinquis B, Sorokin A, Ehrlich SD. (2005). Clustered regularly interspaced short palindrome repeats (CRISPRs) have spacers of extrachromosomal origin. *Microbiology*, 151, 2551-2561. DOI: 10.1099/mic.0.28048-0.

5. Crooks GE, Hon G, Chandonia JM, Brenner SE. (2004). WebLogo: a sequence logo generator. *Genome Res*, 14 (6), 1188-1190. DOI: 10.1101/gr.849004.

6. Edgar RC. (2007). PILER-CR: Fast and accurate identification of CRISPR repeats. *BMC Bioinformatics*, 8 (18), 1-6. DOI: 10.1186/1471-2105-8-18.
7. Fernald GH, Capriotti E, Daneshjou R, Karczewski KJ, Altman RB. (2011). Bioinformatics challenges for personalized medicine. *Bioinformatics*, 27 (13), 1741-1748. DOI: 10.1093/bioinformatics/btr295.
8. Gaj T, Gersbach CA, Barbas CF. (2013). ZFN, TALEN and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. *Trends Biotechnol*, 31 (7), 397-405. DOI: 10.1016/j.tibtech.2013.04.004.
9. Gasiunas G, Sinkunas T, Siksnys V. (2014). Molecular mechanisms of CRISPR-mediated microbial immunity. *Cell Mol Life Sci*, 71 (3), 449-465. DOI: 10.1007/s00018-013-1438-6.
10. Grissa I, Vergnaud G, Pourcel C. (2007). CRISPRFinder: a web tool to identify clustered regularly interspaced short palindromic repeats. *Nucleic Acids Research*, 35, W52-W57. DOI: 10.1093/nar/gkm360.
11. Grissa I, Vergnaud G, Pourcel C. (2007). The CRISPRdb database and tools to display CRISPRs and to generate dictionaries of spacers and repeats. *BMC Bioinformatics*, 23 (8), 172.
12. He J, Wang J, Yin W, Shao X, Zheng H, Li M, Zhao Y, Sun M, Wang S, Yu Z. (2011). Complete genome sequence of *Bacillus thuringiensis* subsp. *chinensis* strain CT-43. *J Bacteriol*, 193 (13), 3407-3408. DOI: 10.1128/JB.05085-11.
13. Makarova KS, Wolf YI, Alkhnbashi OS, Costa F, Shah SA, Saunders SJ, Barrangou R, Brouns SJ, Charpentier E, Haft DH, Horvath P, Moineau S, Mojica FJ, Terns RM, Terns MP, White MF, Yakunin AF, Garrett RA, van der Oost J, Backofen R, Koonin EV. (2015). An updated evolutionary classification of CRISPR-Cas systems. *Nat Rev Microbiol*, 13 (11), 722-736. DOI: 10.1038/nrmicro3569.
14. Moore JH, Asselbergs FW, Williams SM. (2010). Bioinformatics challenges for genome-wide association studies. *Bioinformatics*, 26 (4), 445-455. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp713.
15. Nam KH, Haitjema C, Liu X, Ding F, Wang H, Delisa MP, Ke A. (2012). Cas5d protein processes pre-crRNA and assembles into a cascade-like interference complex in subtype I-C/Dvulg CRISPR-Cas system. *Structure*, 20 (9), 1574-1584. DOI: 10.1016/j.str.2012.06.016.
16. Navas LE, Amadio AF, Ortiz EM, Sauka DH, Benintende GB, Berretta MF, Zandomeni RO. (2017). Complete sequence and organization of pFR260, the *Bacillus thuringiensis* INTA Fr7-4 plasmid harboring insecticidal genes. *J Mol Microbiol Biotechnol*, 27 (1), 43-54. DOI: 10.1159/000451056.
17. Pardo-Lopez L, Soberon M, Bravo A. (2013). *Bacillus thuringiensis* insecticidal three-domain Cry toxins: mode of action, insect resistance and consequences for crop protection. *FEMS Microbiol Rev*, 37 (1), 3-22. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2012.00341.x.
18. Roh JY, Choi JY, Li MS, Jin BR, Je YH. (2007). *Bacillus thuringiensis* as a specific, safe, and effective tool for insect pest control. *J Microbiol Biotechnol*, 17 (4), 547-559.
19. Rousseau C, Gonnet M, Le Romancer M, Nicolas J. (2009). CRISPI: a CRISPR interactive database. *Bioinformatics*, 25 (24), 3317-3318. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp586.
20. Van der Oost J, Jore MM, Westra ER, Lundgren M, Brouns SJ. (2009). CRISPR-based adaptive and heritable immunity in prokaryotes. *Trends Biochem Sci*, 34 (8), 401-407. DOI: 10.1016/j.tibs.2009.05.002.

Сведения об авторах Information about the authors

Арефьева Надежда Александровна – студентка 3-го курса кафедры физико-химической биологии биолого-почвенного факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1; e-mail: arefieva.n4@gmail.com)

Arefieva Nadezhda Alexandrovna – 3rd year student at the Department of Physicochemical Biology of the Faculty of Biology and Soil Science, Irkutsk State University (664003, Irkutsk, ul. Karla Marksa, 1; e-mail: arefieva.n4@gmail.com)

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 (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1; 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 (664003, Irkutsk, ul. Krasnogo Vosstania, 1; e-mail: alanir07@mail.ru) © <https://orcid.org/0000-0001-5410-5113>

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>

Чемерилова Валентина Ивановна – кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии биолого-почвенного факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (e-mail: valchem@yandex.ru)


Chemirilova Valentina Ivanovna – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor at the Department of Microbiology of the Faculty of Biology and Soil Science, Irkutsk State University (e-mail: valchem@yandex.ru)


Вятчина Ольга Федоровна – кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии биолого-почвенного факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (olgairk3@rambler.ru)

Vyatchina Olga Fedorovna – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor at the Department of Microbiology of the Faculty of Biology and Soil Science, Irkutsk State University (e-mail: olgairk3@rambler.ru)

Секерина Ольга Александровна – кандидат биологических наук, доцент кафедры медицинской биологии медико-профилактического факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: o.sekerina@ismu.baikal.ru)

Sekerina Olga Aleksandrovna – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor at the Department of Medical Biology of the Public Health Faculty, Irkutsk State Medical University (o.sekerina@ismu.baikal.ru)

Степаненко Лилия Александровна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии и биотехнологии НИИ биомедицинских технологий, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: steplia@mail.ru)  <https://orcid.org/0000-0002-5792-7283>

Stepanenko Lilia Alexandrovna – Candidate of Medical Sciences, Senior Research Officer at the Laboratory of Molecular Virology and Biotechnology, Research Institute of Biomedical Technologies, Irkutsk State Medical University (e-mail: steplia@mail.ru)  <https://orcid.org/0000-0002-5792-7283>

Маркова Юлия Александровна – доктор биологических наук, старший научный сотрудник, заведующая лабораторией растительно-микробных взаимодействий, ФГБУН «Сибирский институт физиологии и биохимии растений» СО РАН (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132, а/я 317; e-mail: juliam06@mail.ru)

Markova Yulia Alexandrovna – Doctor of Biological Sciences, Senior Research Officer, Head of the Laboratory of Plant Microbial Interactions, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, SB RAS (664033, Irkutsk, ul. Lermontova, 132, P.O.B. 317; e-mail: juliam06@mail.ru)

Юринова Галина Валерьевна – кандидат биологических наук, доцент кафедры физико-химической биологии биолого-почвенного факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (e-mail: yurinova@yandex.ru)

Yurinova Galina Valerievna – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor at the Department of Physicochemical Biology of the Faculty of Biology and Soil Science, Irkutsk State University (e-mail: yurinova@yandex.ru)

Саловарова Валентина Петровна – доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой физико-химической биологии биолого-почвенного факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (e-mail: vsalovarova@rambler.ru)

Salovarova Valentina Petrovna – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Physicochemical Biology of the Faculty of Biology and Soil Science, Irkutsk State University (e-mail: vsalovarova@rambler.ru)

Приставка Алексей Александрович – кандидат биологических наук, доцент кафедры физико-химической биологии биолого-почвенного факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (e-mail: pristavk@gmail.com)

Pristavka Aleksey Aleksandrovich – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor at the Department of Physicochemical Biology of the Faculty of Biology and Soil Science, Irkutsk State University (e-mail: pristavk@gmail.com)

Кузьминова Валерия Андреевна – студентка 3-го курса кафедры физико-химической биологии биолого-почвенного факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (e-mail: ewwwrye@gmail.com)

Kuzminova Valeria Andreevna – 3rd year student at the Department of Physicochemical Biology of the Faculty of Biology and Soil Science, Irkutsk State University (e-mail: ewwwrye@gmail.com)

Рева Олег Николаевич – кандидат биологических наук, доцент Центра биоинформатики и компьютерной биологии, кафедры биохимии, генетики и микробиологии, Университет Претории (ЮАР) (Pretoria 0002, Private Bag X20, Hatfield, 0028, South Africa; e-mail: reva@mail.ru)

Reva Oleg Nikolaevich – PhD in Biology, Associate Professor, Centre for Bioinformatics and Computational Biology, Department of Biochemistry, Genetics and Microbiology, University of Pretoria (Pretoria 0002, Private Bag X20, Hatfield, 0028, South Africa; e-mail: reva@mail.ru)

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)

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)