



Полиморфизм генов рецепторов герминации спор у штаммов *Bacillus anthracis* основных генетических линий

Еременко Е.И.[✉], Рязанова А.Г., Печковский Г.А., Писаренко С.В., Ковалев Д.А., Аксенова Л.Ю., Семенова О.В., Куличенко А.Н.

Ставропольский противочумный институт, Ставрополь, Россия

Аннотация

Введение. Генетическая структура глобальной популяции *Bacillus anthracis* характеризуется неравной распространённостью изолятов основных генетических линий А, В и С, причина которой не установлена. Актуально определение особенностей генов, кодирующих факторы, определяющие существование этого патогена на внутри- и внеорганизменной стадиях жизненного цикла, которые могут влиять на распространённость штаммов.

Цель работы — характеристика генов и белков герминации спор у штаммов *B. anthracis* разных генетических линий.

Материалы и методы. Изучены полногеномные последовательности 46 штаммов *B. anthracis* и штамма *CI B. cereus biovar anthracis* из базы данных GenBank NCBI. Анализ *in silico* проводили в программах «BLASTn», «MEGA X», «Tandem Repeat Finder».

Результаты. Количество однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), инделов и псевдогенов у штаммов *B. anthracis* линии В было больше в 2,7–25,6 раза, линии С — в 2,0–3,5 раза, а у штамма *B. cereus biovar anthracis* — в 20–2841 раз, чем у штаммов линии А. Значимые замены в генах, приводящие к изменению аминокислотного состава 10 белков рецепторов герминации, также значительно чаще встречались у штаммов *B. anthracis* линий В, С и штамма *B. cereus biovar anthracis*.

Идентифицированы неописанные VNTR в пределах гена *gerHA* с единицей повтора 78 и 117 п.н. и SNP в гене *gerM*, варьирующие между и внутри изолятов разных генетических линий. Показано, что 6 генов рецепторов герминации имеют редкие стартовые кодоны.

Заключение. Большее количество несинонимичных SNP в генах рецепторов герминации спор с изменением аминокислотного состава и, вероятно, функции белков у штаммов *B. anthracis* основных генетических линий В, С и *B. cereus biovar anthracis*, чем у штаммов линии А, может определять их ограниченные адаптационные возможности и быть одним из объяснений меньшей распространённости по сравнению с линией А. Различия в генах *gerHA* и *gerM* позволяют дифференцировать основные генетические линии В и С от А.

Ключевые слова: *Bacillus anthracis*, генетические линии, гены и белки рецепторов герминации спор

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Еременко Е.И., Рязанова А.Г., Печковский Г.А., Писаренко С.В., Ковалев Д.А., Аксенова Л.Ю., Семенова О.В., Куличенко А.Н. Полиморфизм генов рецепторов герминации спор у штаммов *Bacillus anthracis* основных генетических линий. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(2): 237–247.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-483>

EDN: <https://www.elibrary.ru/lnznoj>

Polymorphism of spore germination receptor genes in *Bacillus anthracis* strains of major genetic lineages

Evgeny I. Eremenko[✉], Grigorii A. Pechkovskii, Alla G. Ryazanova, Sergey V. Pisarenko, Dmitry A. Kovalev, Lyudmila Yu. Aksenova, Olga V. Semenova, Alexander N. Kulichenko

Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russia

Abstract

Introduction. The genetic structure of the global population of *Bacillus anthracis* characterized by an unequal distribution of isolates of the main genetic lineages A, B and C, the reason for which is unknown. Determining the characteristics of genes encoding factors that determine the existence of this pathogen at the intra- and extra organismal stages of the life cycle, which can influence the prevalence of strains, is relevant.

Aim — characterization of the genes and proteins of spore germination in strains of the anthrax pathogen of different genetic lineages.

Materials and methods. Whole genome sequences of 46 *B. anthracis* strains and the CI strain of *B. cereus biovar anthracis* from the NCBI GenBank database studied. In silico analysis carried out using the programs “BLASTn”, “MEGA X”, “Tandem Repeat Finder”.

Results. The number of SNPs, indels and pseudogenes in *B. anthracis* strains of line B was 2,7–25,6 times higher, in line C 2–23,5 times, and in the *B. cereus biovar anthracis* strain was 20–2841 times higher than in strains of line A. Significant substitutions in genes leading to changes in the amino acid composition of 10 germination receptor proteins were also significantly more common in *B. anthracis* strains of lines B, C and the *B. cereus biovar anthracis* strain.

Undescribed VNTRs within the *gerHA* gene with repeat units of 78 and 117 bp identified, varying between and within isolates of different genetic lineages. Six germination receptor genes have been shown to have rare starting codons.

Conclusion. A larger number of non-synonymous SNPs in the genes of spore germination receptors with changes in the amino acid composition of proteins in *B. anthracis* strains of the main genetic lines B, C and *B. cereus biovar anthracis* than in strains of line A suggests their limited adaptive capabilities and may be one of the explanations for the lower prevalence compared to line A. Differences in the *gerHA* and *gerM* genes make it possible to differentiate the major B and C genetic lineages from A.

Keywords: *Bacillus anthracis*, genetic lineages, genes and proteins of spore germination receptors.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Eremenko E.I., Pechkovskii G.A., Ryazanova A.G., Pisarenko S.V., Kovalev D.A., Aksenova L.Yu., Semenova O.V., Kulichenko A.N. Polymorphism of spore germination receptor genes in *Bacillus anthracis* strains of major genetic lineages. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2024;101(2):237–247.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-483>

EDN: <https://www.elibrary.ru/lnznoj>

Введение

Глобальная генетическая структура *Bacillus anthracis* представлена 3 основными генетическими линиями: А, В и С. Линия А, присутствующая повсеместно, охватывает около 90% всей популяции; линия В, встречающаяся преимущественно в некоторых регионах, составляет примерно 10%. К линии С относятся 3 штамма (< 1%), выделенные в США [1–3]. Из 363 геномов штаммов, депонированных в GenBank к настоящему времени, 5 (2002013094, 2000031021, 2000031052, A1055, A3783) могут быть отнесены к линии С. Отдельной генетической линией являются штаммы *B. cereus biovar anthracis*, способные вызывать сибирскую язву у диких животных в лесах Западной Африки [4, 5]. Причины такого неравномерного количественного, а также географического распределения разных линий *B. anthracis* неизвестны. Предполагается, что за этим стоит разная способность к адаптации, определяемая как степень патогенности, так и эффективностью споруляции и прорастания спор. В нашей предыдущей работе показаны многократное превышение числа полиморфизмов в геномах, включая гены факторов патогенности, у штаммов линий В и С по сравнению с линией А, определены значимые замены в

хромосомных и плазмидных генах, потенциально влияющие на вирулентность [6].

B. anthracis является возбудителем сибирской язвы — особо опасной зоонозной инфекции с глобальным распространением, а также агентом биологического оружия и биотерроризма в силу высокой патогенности и способности образовывать в окружающей среде стойкие споры. Циклическая смена спорообразования, прорастания покоящихся спор, вегетативного роста и нового спорообразования присуща всем представителям рода *Bacillus*. У сапрофитных почвенных бацилл все эти процессы проходят в почве, но патогенному сибиреязвенному микробу для поддержания жизненного цикла необходимо прорастание спор при попадании в организм чувствительного хозяина, вегетативное размножение в процессе патогенеза с выделением вегетативных бацилл в окружающую среду, где происходят споруляция и сохранение покоящихся спор в почве неопределённо долго, вплоть до нового инфицирования чувствительных животных [3]. Очевидно, что споруляция и прорастание спор — фундаментальные процессы, необходимые для поддержания существования *B. anthracis* как вида, наряду с его патогенными свойствами.

Образование спор делает возможным выживание *B. anthracis* в окружающей среде годами, до того момента, когда они вступают в контакт с подходящим млекопитающим хозяином, прорастают и вызывают сибиреязвенную инфекцию. Хотя состояние покоя может продолжаться в течение длительного периода, прорастание спор — очень быстрый процесс, позволяющий *B. anthracis* быстро размножаться и распространяться. Начало прорастания, или герминация спор, зависит от соответствующего взаимодействия герминанта с герминантным рецептором [7].

Для *B. anthracis* питательными веществами — герминантами являются в первую очередь аминокислоты и пуриновые нуклеозиды, которые взаимодействуют с их специфичными рецепторами, расположенными на внутренней мембране спор [8–10]. Аланин или инозин обычно служат первичными герминантами с отдельными аминокислотами (L-гистидин, L-пролин, L-триптофан и L-тирозин), функционирующими как когерминанты. Аланин способен вызывать прорастание спор сам по себе, хотя и в очень высоких концентрациях [8, 11]. Инозин может сочетаться с разнообразием L-аминокислот, включая L-гистидин, L-цистин, L-метионин, L-фенилаланин, L-пролин, L-серин, L-валин, L-триптофан, L-тирозин, как и с первичным герминантом аланином. Инозин, однако, сам по себе недостаточен для прорастания спор *B. anthracis* [9].

Прежде чем может начаться прорастание, герминанты должны каким-то образом пройти через внешние слои споры, чтобы достичь своих рецепторов, расположенных во внутренней мембране.

После распознавания рецепторами их специфичных герминантов инициируется каскад событий. Запасы дипиколиной кислоты и ассоциированного с ними иона кальция освобождаются из ядра споры, позволяя воде поступать в спору и начинать регидратацию [12]. Активация литических ферментов, гидролизующих пептидогликан в кортексе споры, приводит к дальнейшей регидратации споры [13]. Затем возобновляется синтез РНК, белка и ДНК с превращением в вегетативную бациллу. В оптимальных условиях весь процесс очень быстрый, происходящий в течение минут.

Пять рецепторов герминантов *B. anthracis* кодируются трицистронными оперонами, *gerH*, *gerK*, *gerL* и *gerS* локализуются на хромосоме, а *gerX* — на плазмиде вирулентности рХО1 [14, 15] Существуют два дополнительных рецептороподобных оперона — *gerA* и *gerY*, но они содержат мутации со сдвигом рамки считывания и не играют роль в прорастании [10]. Оперон *gerP*, включающий 6 генов, может быть вовлечён в процесс доставки герминантов к их рецепторам во внутренней мембране споры [16].

Данных относительно существования различий в генах и ферментах герминации спор у

штаммов разных основных генетических линий *B. anthracis* в доступной литературе нет.

Актуальность проведённой работы определяется отсутствием данных, которые значимы для развития представлений о различиях в генетическом аппарате герминации спор у штаммов разных основных генетических линий, связанных с их адаптационными возможностями, потенциально определяющими неравномерность их распределения.

Цель данной работы — характеристика генов и белков герминации спор у штаммов *B. anthracis* разных генетических линий.

Материалы и методы

Исследовали полные геномы 46 штаммов из базы данных GenBank NCBI, относящихся к основным генетическим линиям А (30 изолятов), В (11), С (5), геном штамма С1 *B. cereus biovar anthracis*. Данная выборка репрезентативна, в ней представлены все известные 14 canSNP-групп, отражающих глобальную филогенетическую структуру *B. anthracis*.

Идентификаторы NCBI RefSeq для геномов¹:

GCF_000008445.1, GCF_009831565.1,
GCF_000167335.1, GCF_003063965.1,
GCF_003064045.1, GCF_003860145.1,
GCF_000793525.1, GCF_000832965.1,
GCF_000310045.1, GCF_000167235.1,
GCF_000534935.2, GCF_000258885.1,
GCF_000278385.1, GCF_000832465.1,
GCF_001273005.1, GCF_001273085.1,
GCF_000167295.1, GCF_002896575.1,
GCF_014249775.1, GCF_003227955.1,
GCF_000831505.1, GCF_000832745.1,
GCF_003064005.1, GCF_000008165.1,
GCF_000583105.1, GCF_000833275.1,
GCF_022221345.1, GCF_000743805.1,
GCF_900014355.1, GCF_002356575.1,
GCF_000143605.1, GCF_000181675.2,
GCF_001277955.1, GCF_000167315.1,
GCF_000832785.1, GCF_002980615.3,
GCF_000833125.1, GCF_022221285.1,
GCF_006088855.1, GCF_000725325.1,
GCF_001936375.1, GCF_022221085.1,
GCF_021390035.1, GCF_000742655.1,
GCF_000782995.1, GCF_000167255.1,
GCF_022221185.1.

Последовательности генов и белков выровняли в программе «MEGA X» с референс-штаммом Ames Ancestor canSNP-группы А.Br.Ames.

Анализ геномов проводили *in silico*, используя геном штамма *B. anthracis* Ames Ancestor (GenBank: NC_007530.2; NC_007322.2; NC_007323.3; NCBI RefSeq: GCF_000008445.1) в качестве референсного. Идентификацию полиморфизмов осуществ-

¹ NCBI. Genomes & Maps.
URL: <https://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/all/GCF/000/833/275>

вляли в программах BLASTn, BLASTp, MEGA X, MAUVE, Tandem Repeat Finder и на ресурсе NCBI Protein Database.

Результаты

Большинство генов рецепторов герминации спор организованы в полицистронные опероны.

Данные о полиморфизмах генов рецепторов герминации приведены в **таблице**.

Основная генетическая линия A

Мутации в виде индел встречались чаще других полиморфизмов, с меньшей частотой отмечены однонуклеотидные замены (SNP), часть из которых приводила к замене аминокислот (а.к.), реже всего регистрировались псевдогены.

Трицистронный оперон *gerH*. Ген *gerHA* — 3 варианта, 2 с отличающимися размерами от референсного ввиду делеций. Вариант 1 — референсный, 2244 п.н., 747 а.к.; вариант 2 — 2166 п.н., 721 а.к.; вариант 3 — 2088 п.н., 695 а.к.

Трицистронный оперон *gerK*. Белок GerKA — 1 вариант. Белок GerKB — 1 вариант, как у референсного штамма, у гена *gerKB* стартовый кодон GTG. Белок GerKC — 1 вариант.

Трицистронный оперон *gerL*. Ген *gerLA* — 3 варианта, отличающиеся размерами (1479, 1437 и 1470 п.н.). Один из вариантов имеет 2 стартовых кодона: GTG и ATG. Два других гена оперона *gerL* — *gerLB* и *gerLC* имеют по 1 варианту, у *gerLB* стартовый кодон TTG.

Ген *gerM* имеет 1 вариант.

Оперон *gerP* включает 6 генов: *A, B, C, D, E, F*. Гены *gerPA, gerPB* и *gerPD* представлены только в 1 варианте. Ген *gerPB* имеет стартовый кодон TTG. Ген *gerPC* — 2 варианта, отличающиеся одним несинонимичным SNP. Ген *gerPE* — 2 варианта, также отличающиеся 1 несинонимичным SNP. Кроме гена *gerPF* в опероне *gerP*, есть ортолог вне оперона.

Трицистронный оперон *gerS* — все 3 гена (*gerSA, gerSB, gerSC*) имеют только по 1 варианту, идентичному референс-штамму. У гена *gerSB* стартовый кодон GTG.

Трицистронный оперон *gerX* — из генов оперона 2 (*gerXA* и *gerXB*) имеют по 1 варианту, идентичному референс-штамму. Ген *gerXC* представлен в 2 вариантах, различающихся 1 несинонимичным SNP.

Трицистронный оперон *gerY* — из 3 генов оперона 1 ген — *gerYA* имеет такой же вариант, как у референс-штампа. Ген *gerYB* имеет мутации со сдвигом рамки считывания, превращающие его в псевдоген. Ген *gerYC* имеет 2 варианта разных размеров. Гены обоих вариантов имеют редко встречающиеся стартовые кодоны АТТ.

Частота встречаемости SNP составила 0,17, для инделов — 0,27, для псевдогенов — 0,1 на 1 ге-

ном. Таким образом, инделы встречались чаще, чем SNP.

В целом для 25 генов было 34 варианта белков.

Основная генетическая линия B

Из 25 генов 12 представлены только 1 вариантом, соответствующим референсному штамму.

Трицистронный оперон *gerH*. Из 3 генов (*gerHA, gerHB, gerHC*) только *gerHA* был вариативным и представлен 4 вариантами разных размеров: вариант 1 размером 2385 п.н., вариант 2 — 2322 п.н., вариант 3 — 2190 п.н., вариант 4 — 2166 п.н.

Трицистронный оперон *gerK*. Гены *gerKB* и *gerKC* не вариативны, идентичны референсному штамму. Ген *gerKB* имеет стартовый кодон GTG. Ген *gerKA* — два варианта одного размера. Вариант 2 содержит 1 несинонимичный SNP.

Трицистронный оперон *gerL* — 2 гена оперона, *A* и *B* не вариативны и соответствуют референсному штамму. Ген *gerLA* начинается с триплета GTG, ген *gerLB* — с триплета TTG. Ген *gerLC* — 2 варианта, второй выглядит как псевдоген.

Ген *gerM* — один вариант, отличающийся от референсного 12 SNP, один из которых несинонимичный.

Оперон *gerP* — из 6 генов вариативны 2: *gerPE* и *gerPF*. Ген *gerPB* имеет стартовый кодон TTG. Второй вариант *gerPE* отличается от референсного 1 несинонимичным SNP. Ген *gerPF* — как и у штаммов линии A, кроме гена оперона *gerP*, есть второй ген с таким обозначением вне оперона. Оба не отличаются от референсного штамма.

Трицистронный оперон *gerS*. Гены *gerSA* и *gerSB* — по 2 варианта одного размера, у *gerSA* один отличается от референсного 1 несинонимичным SNP, второй — 2 несинонимичным SNP. У гена *gerSB* — один соответствует референсному, второй отличается несинонимичным SNP, оба имеют стартовый кодон GTG.

Трицистронный оперон *gerX*. Гены *gerXB* и *gerXC* имеют по 2 варианта. Вариант 1 *gerXB* соответствует референсному. Вариант 2 имеет 1 несинонимичный SNP. *gerXC* имеет 2 варианта. Вариант 1 имеет 1 несинонимичный SNP. Вариант 2 имеет 2 несинонимичных SNP. *gerXA* имеет 1 вариант, соответствующий референсному.

Трицистронный оперон *gerY*. Ген *gerYA* — 1 вариант с 2 несинонимичными SNP. Ген *gerYB* — 1 вариант с делецией, дающей сдвиг рамки считывания в гене (псевдоген). Ген *gerYC* — 1 вариант, соответствующий референсному, со стартовым кодоном АТТ.

В целом для линии B идентифицированы 35 вариантов 25 белков. Частота встречаемости была 4,36 для SNP, 1 — для инделов, 0,27 — для псевдогенов. Чаще всего встречались SNP, частоты всех

Структурные и функциональные особенности белков и генов герминации спор у штаммов *B. anthracis* разных генетических линий
 Structural and functional features of proteins and genes for spore germination in *B. anthracis* strains of different genetic lineages

Ген Gene	Основные генетические линии Major Lineages														Всего Total			
	A				B				C				B. cereus biovar anthracis					
	SNP	INDEL	псевдо- гены pseudo- genes	варианты белков protein variants	SNP	INDEL	псевдо- гены pseudo- genes	варианты белков protein variants	SNP	INDEL	псевдо- гены pseudo- genes	варианты белков protein variants	SNP	INDEL		псевдо- гены pseudo- genes	варианты белков protein variants	
<i>gerHA</i>	0	2	0	3	24	9	0	4	0	0	2	0	1	47	1	0	1	94
<i>gerHB</i>	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	73	2	0	1	79
<i>gerHC</i>	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	65	2	0	1	71
<i>gerKA</i>	1	0	0	1	1	0	1	2	0	0	0	0	1	0	0	1	1	9
<i>gerKB</i>	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	8	0	0	1	12
<i>gerKC</i>	0	2	2	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	13	0	0	1	21
<i>gerLA</i>	1	2	0	3	0	0	0	1	0	0	0	0	1	4	0	0	1	13
<i>gerLB</i>	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	35	0	0	1	39
<i>gerLC</i>	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	11	0	0	1	17
<i>gerM</i>	0	0	0	1	12	0	0	1	12	0	0	0	1	12	0	0	1	41
<i>gerPA</i>	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	4
<i>gerPB</i>	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	4
<i>gerPC</i>	1	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	1	2	0	0	1	4
<i>gerPD</i>	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	4
<i>gerPE</i>	1	0	0	2	1	0	0	1	1	0	0	0	1	7	0	0	1	4
<i>gerPF</i>	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0	2	8
<i>gerSA</i>	0	0	0	1	2	0	0	2	1	0	0	0	2	67	0	0	1	76
<i>gerSB</i>	0	0	0	1	1	0	0	2	0	0	0	0	1	10	0	0	1	16
<i>gerSC</i>	0	0	0	1	1	0	0	2	1	0	0	0	1	10	0	0	1	17
<i>gerXA</i>	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	4
<i>gerXB</i>	0	0	0	1	1	0	0	2	1	0	0	0	1	1	0	0	1	8
<i>gerXC</i>	1	0	0	2	3	0	0	2	1	2	1	1	1	1	2	1	1	18
<i>gerYA</i>	0	0	0	1	2	0	0	1	2	0	0	0	1	53	0	0	1	71
<i>gerYB</i>	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1	34	0	0	1	42
<i>gerYC</i>	0	1	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	1	30	0	0	2	37
Всего Total	5	8	3	34	48	11	3	35	20	4	1	1	28	483	7	2	27	728
На 1 геном Per 1 genome	0,17	0,27	0,1	4,36	1	0,27	0,2	4	0,8	0,2	0,2	0,2	483	7	2	2	2	

Примечание. Жирным курсивом выделены гены, дифференцирующие линию А от линий В и С.
 Note. Genes that differentiate line A from lines B and C are highlighted in bold italics.

полиморфизмов были существенно выше, чем у линии А.

Основная генетическая линия С

Трицистронный оперон *gerH*. Ген *gerHA* — 3 варианта. У штаммов А1055 и А3783 ген имел размер 2244 п.н., соответствующий референсному, у штамма 2002013094 — 2166 п.н., как у варианта 4 линии В, с 1 делецией 78 п.н., отличающей его от референсной последовательности. У штаммов 2000031021 и 2000031052 размер гена был 2088 п.н., с делецией 156 п.н. Остальные 2 гена оперона *gerH* не были вариабельными.

Трицистронный оперон *gerK*. Все 3 гена оперона *gerK* не отличались от референсного, у гена *gerKB* был стартовый кодон GTG. Гены оперона *gerL* не вариабельны, как у штаммов линии В, у *gerLB* стартовый кодон TTG.

Ген *gerM* — у единственного варианта было 11 синонимичных и 1 несинонимичный SNP в сравнении с референсным, как и у гена линии В.

Оперон *gerP* — из 6 генов вариабельны 2. Ген *gerPE* имеет 1 вариант с 1 несинонимичным SNP по сравнению с референсным геном. Ген *gerPF* — как и у штаммов линии А и В, кроме гена оперона *gerP*, есть второй ген с таким обозначением вне оперона. Оба не отличаются от референсного штамма. Ген *gerPB* имеет стартовый кодон TTG.

Оперон *gerS* — из 3 генов вариабельны 2. *gerSA* имеет 2 варианта, 1-й соответствует референсному, 2-й отличается одним несинонимичным SNP. *gerSC* в 1 варианте, отличается одним синонимичным SNP. У гена *gerSB* стартовый кодон GTG.

Оперон *gerX* — из 3 генов вариабельны 2. Ген *gerXB* в одном варианте с 1 несинонимичной нуклеотидной заменой. Ген *gerXC* 1 вариант, ген больших размеров, чем референсный, с 2 инделами и 1 несинонимичным SNP, со сдвигом рамки считывания и образованием псевдогена.

Оперон *gerY* — 3 гена. Ген *gerYA* с 1 вариантом, отличающимся 2 несинонимичными SNP. Ген *gerYB* с 1 вариантом, имеющим 1 несинонимичный SNP. Ген *gerYC* имеет 1 вариант, как у референсного штамма, со стартовым кодоном ATT.

В целом 25 белков герминации спор линии С имели 28 вариантов. Частота встречаемости SNP составляла 4,0, инделов — 0,8, псевдогенов — 0,2 и также была значительно выше, чем у штаммов линии А.

B. cereus biovar anthracis

Из 25 генов 4 не отличались от референсных. Это были гены оперона *gerP A, B, D* и *F*. Ген *gerPC* имел 1 синонимичный и 1 несинонимичный SNP. Ген *gerPE* отличался 7 SNP, 1 из которых несинонимичный. Гены *gerKB* и *gerSB* имели стартовый кодон GTG, *gerLB* и *gerPB* — TTG.

Оперон *gerX* устроен так же, как у штамма 2002013094 линии С. Ген *gerXC* представлен в форме псевдогена. Можно отметить, что *gerXA* идентичен у всех 3 линий *B. anthracis* и *B. cereus biovar anthracis*.

В опероне *gerK* ген *gerKA* является псевдогеном из-за присутствия в рамке считывания стоп-кодона.

Остальные гены герминации спор *B. cereus biovar anthracis* имели множество отличий от таковых у *B. anthracis*. Больше всего было SNP (483), из них 113 приводящих к аминокислотным заменам, 7 инделов и 2 псевдогена. В целом 25 белков герминации имели 27 вариантов.

Таким образом, анализ показал, что количество полиморфизмов в генах и белках герминации спор у штаммов *B. anthracis* линии В было в 2,7–25,6 раза, линии С — в 2,0–23,5 раза, а у штамма *B. cereus biovar anthracis* — в 20–2841 раз больше, чем у штаммов линии А. Значимые замены в генах, приводящие к изменению аминокислотного состава белков, также значительно чаще встречались у штаммов линий В, С и штамма *B. cereus biovar anthracis*.

Обсуждение

По результатам анализа *in silico* в геномах штаммов *B. anthracis* и штамма *B. cereus biovar anthracis str CI* определяются 7 полицистронных оперонов рецепторов герминантов: *gerH*, *gerK*, *gerL*, *gerP*, *gerS*, *ger X* и *gerY*, а также отдельные гены прорастания спор *gerM* и *spoVAF*. Последний описан как ген белка MULTISPECIES: spore germination protein *SpoVAF*, но он входит в один оперон с генами белков стадии V споруляции *spoVAE*, *spoVAD*, *spoVAC*, *spoVAB* и *spoVAA*. Дистальная часть оперона *spoVA Bacillus subtilis* содержит открытую рамку считывания гена *spoVAF*, кодирующую белок (*SpoVAF*), очень схожий с белками прорастания спор, кодируемых генами *gerAA* и *gerBA*. Рамка считывания фактически перекрывает ген *spoVAE* примерно на 30 остатков, поэтому не ясно, является ли этот ген частью оперона *spoVA* или регулируется отдельно. У штаммов *B. anthracis* рамка считывания гена *spoVAF* перекрывает примерно на 13 остатков ген *spoVAE*. Отметим, что у *B. anthracis* и *B. cereus biovar anthracis* в опероне *spoVA* имеются 2 гена *spoVAE*, расположенных один за другим, не перекрываясь.

Трицистронный оперон *gerH* у *B. anthracis* важен для прорастания эндоспор, запускаемого 2 различными путями реакции прорастания, называемыми инозин-гистидиновым и пурин-аланиновым. Вместе эти 2 пути позволяют эндоспорам *B. anthracis* более широко распознавать пурины и аминокислоты, которые могут быть существенны для опосредованного средой прорастания в ор-

ганизме хозяина [9]. Получены данные, которые предполагают, что *gerH* необходим не только для инозинзависимой герминации, но он также способен вызвать полную герминацию в отсутствие всех других рецепторов [7].

Общее количество всех полиморфизмов у гена *gerHA* всех 3 линий *B. anthracis* было наивысшим (112) среди всех генов рецепторов герминации. Нами показано, что *gerHA* имеет несколько вариантов размера: 2088, 2166, 2190, 2244, 2322 и 2385 п.н., отличающихся, кроме SNP, инделами, часть из которых определялась наличием ранее не идентифицированных VNTR. Три варианта *gerHA* отличались размерами ввиду наличия VNTR с единицей повтора размером 78 п.н. в области 392–703 п.н. с числом повторов 3 для штаммов линии А Ames Ancestor (canSNP группа A.Br.Ames), Tsiankovskii-1 и Larissa (canSNP группа A.Br.008/011), 1144 (canSNP группа A.Br. 011/009), Australia 94 (canSNP группа A.Br. Aust94), Western North America (canSNP группа A.Br. WNA), H9401 (canSNP группа A.Br.005/007), A1055 и A3783 линии С.Br. A1055. 2 повтора были у штамма 2002013094 canSNP группы С.Br. A1055. У штаммов Vollum (canSNP группа A.Br.Vollum), V770-NP-R (canSNP группа A.Br.003/004), CZC5 (canSNP группа A.Br.005/006), 2000031021 и 2000031052 (линия С) имелась 1 единица этого повтора. Четыре повтора были у штаммов CNEVA-9066 (canSNP группа В.Br. CNEVA) и HYU01 (canSNP группа В.Br.001/002). Соответствующие белки имели 2, 3 и 4 единицы повтора DSDQGGQQHNSKQDESSQEQQHNSKQD (рис. 1, а). У штамма Kruger В, кроме 3 повторов, были также делеции 719–764 и 768–775 п.н.

VNTR с единицей повтора размером 117 п.н. отмечен у штамма HYU01 (canSNP группа В.Br.001/002) в области 275–508 п.н. (2 повтора), у штаммов Kruger В (canSNP группа В.Br.Kruger В) и Ames Ancestor — одна единица такого размера. Соответствующие белки GerHA имели 2 повтора и 1 единицу повтора DSDQGGQQHNSKQGNSDQGGQQHNSKQGDSQGGQQHNSKQN (рис. 1, б).

Штамм *B. cereus biovar anthracis* CI имел размер *gerHA* 1917 п.н. за счёт делеции, включающей 2 повтора 117 п.н., а также 2 делеции 246–342 и 488–697, 47 SNP, из которых 10 были несинонимичными.

Таким образом, области повторов размером 117 и 78 п.н. частично перекрывались на протяжении 392–508 п.н. В целом у штаммов линии А было 3 варианта *gerHA*, но минимальный вариант — 2088 п.н. — не отмечен у наиболее распространённых canSNP групп A.Br.008/011, A.Br.011/009, а также у штаммов линии В, среди которых встречались 4 варианта генов и белков. Для штамма 2002013094 линии С характерен 1 вариант размером 2166 п.н., который отмечен и у штаммов линий А и В. У этого штамма порядок субъединиц в опероне *gerH* обратный — С-В-А, в отличие от штаммов других линий.

Ранее нами установлено, что у штаммов основной генетической линии В отсутствие амплификации VNTR-локуса Vams34 при MLVA связано с делецией или заменами оснований в области отжига обратного праймера и что эта область приходится на ген прорастания спор *gerHA* штамма *B. anthracis* Ames Ancestor. Кроме того, что данная особенность служит надёжным генетическим маркером и может использоваться для молекулярного субтипирования и дифференциации линий А и С от В, изучение различий генов и влияние их на функцию белков прорастания спор возбудителя сибирской язвы важно, поскольку процесс прорастания спор является критическим в жизненном цикле этого патогена и становлении инфекции [17].

Трицистронный оперон *gerS* у *B. anthracis* опосредует прорастание эндоспор герминантами, содержащими ароматические кольцевые структуры [8]. Все 3 гена *gerS* у штаммов линии А не вариабельны. Ген *gerSA* линии В имеет 2 варианта: вариант 1 для штаммов HYU01 (canSNP группа В.Br.001/002), Kruger В, Zimbabwe 89 и SVA11 (группа В.Br.Kruger В) имеет 1 несинонимичный SNP. Вариант 2 у штамма CNEVA-9066 (группа В.Br.CNEVA) имеет 2 несинонимичных SNP.

Ген *gerSB* у штаммов линии В представлен двумя вариантами: вариант 1 для штаммов Kruger В, SVA11, Zimbabwe 89 (группы В.Br.Kruger В), с 1 SNP в гене имеет 1 замену аминокислот; вариант 2 для штаммов CNEVA-9066 и HYU01 соответствует референсному. Ген *gerSC* имеет 2 варианта: вариант 1 для штаммов Kruger В, SVA11, Zimbabwe 89 (группы В.Br.Kruger В) имеет 1 SNP в гене и 1 замену

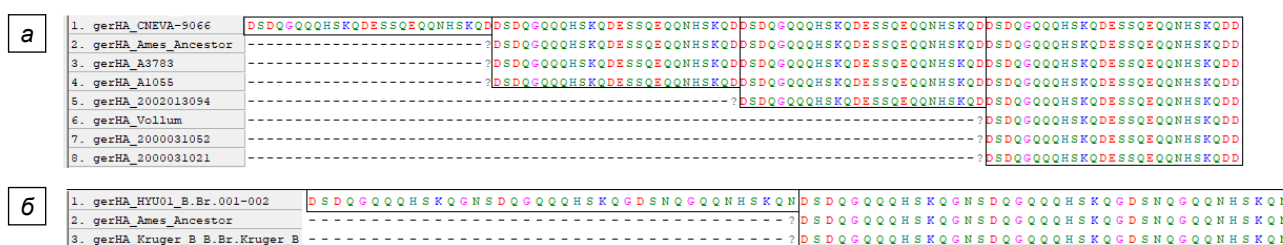


Рис. 1. Области гена *gerHA* с вариабельным числом тандемных повторов (транскрипированные последовательности).

Fig. 1. Regions of the *gerHA* gene with a variable number of tandem repeats (translated sequences).

аминокислот; вариант 2 для штаммов CNEVA-9066 и NYU01 соответствует референсному.

У линии С 2 варианта — для штаммов 2002013094, 2000031021, A1055 и A3783, как у референсного штамма, и для штамма 2000031052 с несинонимичным SNP 1442G→A(R488H).

Оперон *gerP*, включающий 6 генов, может быть вовлечён в процесс доставки герминантов к их рецепторам во внутренней мембране споры и играет роль в проницаемости споровой оболочки [16]. Гены *gerPA*, *gerPB* и *gerPD* представлены только в 1 варианте. Ген *gerPC* имеет 2 варианта, отличающиеся 1 несинонимичным SNP в гене, ген *gerPE* — 2 варианта, также отличающиеся 1 несинонимичным SNP. Вариант 1 встречается только у штаммов группы A.Br.Ames, вариант 2 — у всех групп линий A, B, C *B. anthracis* и *B. cereus biovar anthracis* CI.

Кроме гена *gerPF*, в составе оперона *gerP* есть ортолог с таким обозначением и такого же размера, но другого нуклеотидного состава вне оперона. Оба не отличаются от референсного штамма и имеются у штаммов *B. anthracis* всех линий и у *B. cereus biovar anthracis* CI.

В совокупности профили прорастания отдельных мутантов с делетированным одним из генов оперона *gerP* ($\Delta gerP$) и тройного мутантного штамма с выключенными генами *gerPF*, *gerPF* 2 и *gerPF* 3 оперона *gerP* ($\Delta gerPFnull$) позволяют предположить, что каждый белок GerP играет решающую роль в содействии правильному и быстрому прорастанию. Эта роль может включать в себя попадание питательных веществ в споры, выход дипиколината кальция из спор или и то, и другое [16].

По нашим данным, ген *gerKA* штамма ST11 линии A (canSNP группа A.Br.008/011) содержит синонимичный SNP 1392A→G, штаммы линии B Tyrol 4675, BF1 и BF5 (группа B.Br.CNEVA) — несинонимичный SNP 211T→G (L71V). У штаммов линии B CNEVA-9066 и RA3 (группа B.Br.CNEVA), группы B.Br.001/002 и штамма Zimbabwe 89 группы B.Br.Kruger B, а также у штамма линии C ген соответствует референсному. Штамм Kruger B (группа B.Br.Kruger B) имеет мутацию со сдвигом рамки считывания, а *B. cereus biovar anthracis* CI — стоп-кодон и нефункциональные белки GerKA у обоих штаммов. *gerKB* у штаммов всех 3 линий *B. anthracis* не вариабелен, а *B. cereus biovar anthracis* CI содержит 6 синонимичных SNP, а также 2 несинонимичных SNP 181C→A(L61I) и 427G→T (V143L). *gerKC* у штаммов линий B и C не вариабелен, у штаммов линии A Vollum (canSNP группа A.Br.Vollum),

H9401 (canSNP группа A.Br.005/007) и K3 (canSNP группа A.Br.005/006) ген представлен псевдогеном из-за делеций со сдвигом рамки считывания и нарушения функции белка GerKC.

Ген *gerLA* у штаммов линий B и C не вариабелен, у штаммов линии A отмечены 3 варианта, при этом 2 варианта есть у референс-штамма Ames Ancestor, отличающиеся вставкой 1–42 GTGGGG GATTTGTTAGAGCTAAAAGGTAACCTTATTTGAAGTT (VGDLEELKGNLFEV) у наиболее распространённого варианта 2. У варианта 2 стартовый редкий триплет GTG. У варианта 1 обычный стартовый триплет ATG, который имеется и у варианта 2 в положении 43–45). Тот же вариант, что и вариант 1 штамма Ames Ancestor, есть у штамма JB25 (canSNP группа A.Br.Aust94). Еще один вариант *gerLA*, имеющий делецию 1–9 и несинонимичный SNP 79G→T (D27Y), принадлежит штамму JB10 (canSNP группа A.Br.Aust94) с иницирующим триплетом TTG, у которого в положении 43–45, как и у варианта 1 штамма Ames Ancestor, есть обычный кодон ATG (рис. 2). Эти различия могут быть следствием особенностей трансляции последовательностей белков в разных сборках геномов штаммов, которые в базе данных Protein database NCBI обозначены как разные варианты GerLA. Нельзя исключить также, что в разных условиях трансляция с разной эффективностью может начинаться с разных стартовых кодонов.

Показано, что GerK и GerL демонстрируют частично перекрывающиеся герминантные специфичности, в том смысле, что они оба участвуют в аланиновом ответе, сохраняя при этом уникальные способности к распознаванию аминокислот. Анализ *in vitro* выявил индивидуальный вклад каждого рецептора герминации в известные фенотипы прорастания эндоспор *B. anthracis*. Кроме того, рецепторы герминации способны распознавать несколько соединений в определённом классе питательных веществ и, таким образом, могут рассматриваться как рецепторы молекулярного паттерна. Каждый известный путь прорастания требует по крайней мере 2 различных рецепторов. Вполне вероятно, что в совокупности эти требования к прорастанию способствуют высокой точности, с которой *B. anthracis* должен отличать почвенную среду от животного-хозяина в течение своего сложного жизненного цикла [10].

Несмотря на то что ветви A и B хорошо известны, весьма необычные изоляты ветвей C были описаны совсем недавно. Открытие ветви C позво-

1. Ames_Ancestor_var1	-----ATGAAAAAATTAGAGATGAGTTAGGTTTCGCCTAATGA
2. Ames_Ancestor_var2	GTGGGGGATTTGTTAGAGCTAAAAGGTAACCTTATTTGAAGTTATGAAAAAATTAGAGATGAGTTAGGTTTCGCCTAATGA
3. JB10	-----TTGTTTAGCGCTAAAAGGTAACCTTATTTGAAGTTATGAAAAAATTAGAGATGAGTTAGGTTTCGCCTAATGA

Рис. 2. Варианты *gerLA* штаммов *B. anthracis*.

Fig. 2. *gerLA* variants of *B. anthracis* strains.

ляет предположить, что в природе могут существовать более разнообразные генотипы *B. anthracis*, но они редко встречаются во время вспышек сибирской язвы. В противоположность этому, наиболее успешное распространение и адаптация к новым условиям окружающей среды ветви А, возможно, произошли из-за случайного глобального рассеивания или неизвестного адаптивного преимущества. Подходящий генотип может быть успешным либо из-за стохастических процессов, либо из-за фенотипических характеристик, которые создают репродуктивное преимущество. Таких биологических различий между этими группами не установлено, поскольку адаптивные фенотипы трудно различимы, но именно поэтому их нельзя исключать в качестве объяснения успеха группы. С другой стороны, считается, что темп эволюции каждой ветви может отражать адаптивные различия, такие как скорость прорастания спор, таким образом уравновешивая отбор для долгосрочного выживания и эффективное размножение [18]. Линия С — самая древняя, длительность и скорость её эволюции способствовали накоплению мутаций, подверженных контрелекции. Она не обнаружена нигде, кроме США, штаммы датируются 1956 г. и после этого не выделялись. Условий для передачи возбудителя между дикими животными, которые были в изобилии в древности, было гораздо больше, чем при передаче в случае сельскохозяйственных животных в современных условиях и меньшей восприимчивости в результате вакцинации. В настоящее время в GenBank можно найти 5 геномов штаммов линии С, из которых 3 лишены плазмиды pXO1, кодирующей белки основных факторов патогенности — токсинов, что ограничивает возможности распространения этой линии. Ветвь В1 распространена в Южной Африке, где и сейчас есть большие стада восприимчивых диких копытных хозяев. Напротив, ветвь В2 встречается на юге Франции, Италии, Швейцарии, Германии, в пределах трансальпийского пояса, где хозяевами могут быть в основном одомашненные животные, исторически традиционно разводимая порода коров, с гораздо меньшими возможностями для заражения [19]. Доступность или плотность популяции хозяина могут быть движущей экологической силой, определяющей частоту передачи и, следовательно, скорость эволюции, которая для линий С и В прежде была высокой, но сейчас замедлилась. Эволюция линии А, лишенной мутаций, элиминированных в ходе селективного отбора, которая широко распространилась благодаря активности человека и вытеснила линии В и С, продолжается, способствуя успешной адаптации. Интересно отметить, что штаммы линии В, прежде встречавшиеся на Кавказе, после 1963 г. не выделялись, но сейчас вызывают вспышки сибирской язвы в азиатской части России. В частности, изоляты из вспышки 2016 г. на Ямале относились

к линии В и, как считают, активизировались из старых почвенных очагов в результате таяния вечной мерзлоты и являются древними [20, 21]

Поиск различий в генах и белках герминации спор штаммов *B. anthracis* основных генетических линий направлен на установление адаптивных фенотипов.

Таким образом, в результате проведённых исследований получены ранее не описанные в научных публикациях новые данные. Их анализ показал, что количество полиморфизмов, в том числе несинонимичных SNP в генах герминации спор, приводящих к изменению аминокислотного состава белков, у штаммов *B. anthracis* линий В, С и штамма *B. cereus biovar anthracis* было существенно больше, чем у штаммов линии А. Подобная закономерность отмечена нами также при анализе белков и генов факторов патогенности *B. anthracis* и *B. cereus biovar anthracis* [6].

Впервые установлено, что в пределах гена *gerHA* имеются 2 области с варибельным числом tandemных повторов. В зависимости от числа повторов возможно дифференцирование как штаммов основных линий А, В и С, так и внутри линий, с привязкой к каноническим SNP-группам и некоторым конкретным штаммам. Наличие 12 SNP, включая 1 несинонимичный, в гене *gerM* штаммов линий В и С позволяет отличать их от штаммов линии А. Впервые показано, что редкие стартовые кодоны TTG, GTG, TGT и ATT встречаются у 6 генов штаммов 3 линий *B. anthracis*: *gerKB*, *gerLA*, *gerLB*, *gerPB*, *gerSB* и *gerYC*. Ген *gerLA* у штаммов линии А имеет 3 варианта, при этом у 2 из них определяется по 2 стартовых кодона, 1 из которых относится к редким TTG или GTG.

Заключение

Анализ генов и белков рецепторов герминации спор *B. anthracis* и *B. cereus biovar anthracis* показывает, что существует их значительная варибельность как в пределах основных генетических линий, так и, особенно, между линиями. Варибельность выражалась в наличии SNP, инделов, псевдогенов и определяемых ими вариантов 25 генов и белков. Больше всего полиморфизмов у штаммов наиболее распространённой линии А. Гораздо больше их у штаммов линий В и С. Максимум полиморфизмов отмечен для *B. cereus biovar anthracis*, что вполне объясняется его в определённом смысле двойственной природой — хромосомными генами, свойственными *B. cereus*, и плазмидными, гомологичными *B. anthracis*. Учитывая, что только один оперон рецепторов прорастания *gerX* локализуется на плазмиде pXO1 и её варианте pCI-XO1 *B. cereus biovar anthracis str CI*, не удивительны фундаментальные отличия большинства генов прорастания спор у этого вида. Кроме того, ген *gerXC*, считающийся также

геном вирулентности, у *B. cereus biovar anthracis* и штаммов *B. anthracis* линии С является псевдогеном, что может влиять на функции как прорастания спор, так и вирулентности.

Значимых замен в генах рецепторов герминации спор, приводящих к изменению аминокислотного состава белков, также значительно больше у штаммов *B. anthracis* основных генетических линий В, С и *B. cereus biovar anthracis*. Подобная закономерность, отмеченная нами также при анализе белков и генов факторов патогенности *B. anthracis* и *B. cereus biovar anthracis*, может дополнительно свидетельствовать об ограниченных адаптационных возможностях линий В и С и быть одним из объяснений их меньшей распространённости по сравнению с линией А.

Идентифицированы неописанные VNTR в пределах гена *gerHA* с единицей повтора 78 и 117 п.н. и SNP в гене *gerM*, варьирующие между и внутри изолятов разных генетических линий. Найдены различия в генах *gerHA* и *gerM*, не описанные ранее в научных публикациях, позволяющие дифференцировать основные генетические линии В и С от линии А. Показано, что 6 генов рецепторов герминации имеют редкие стартовые кодоны *TTG*, *GTG*, *TGT* и *ATT*.

Полученные в результате работы данные дополняют сведения о реализации первого этапа жизненного цикла — прорастания спор, расширяя представление об эволюции этого патогена. Они могут быть использованы для определения происхождения штаммов, вызвавших вспышки сибирской язвы, в ходе эпидемиологического расследования. Продолжением данных исследований может быть изучение вариабельности генов споруляции, ещё одной важной стадии жизненного цикла возбудителя сибирской язвы.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Van Ert M.N., Easterday W.R., Huynh L.Y., et al. Global genetic population structure of *Bacillus anthracis*. *PLoS One*. 2007;2(5):e461. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000461>
2. Sahl J.W., Pearson T., Okinaka R., et al. A *Bacillus anthracis* genome sequence from the Sverdlovsk 1979 autopsy specimens. *mBio*. 2016;7(5):e01501-16. DOI: <https://doi.org/10.1128/mBio.01501-16>
3. Pilo P., Frey J. Pathogenicity, population genetics and dissemination of *Bacillus anthracis*. *Infect. Genet. Evol.* 2018;64:115–25. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.06.024>
4. Leendertz F.H., Ellerbrok H., Boesch C., et al. Anthrax kills wild chimpanzees in a tropical rainforest. *Nature*. 2004;430(6998):451–2. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature02722>
5. Klee S.R., Brzuszkiewicz E.B., Nattermann H., et al. The genome of a bacillus isolate causing anthrax in chimpanzees combines chromosomal properties of *B. cereus* with *B. anthracis* virulence plasmids. *PLoS One*. 2010;5(7):e10986. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010986>
6. Еременко Е.И., Печковский Г.А., Рязанова А.Г. и др. Анализ *in silico* геномов штаммов *Bacillus anthracis* главных генетических линий. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(3):155–65. Eremenko E.I., Pechkovskiy G.A., Ryazanova A.G., et al. *In silico* analysis of genomes of *Bacillus anthracis* strains belonging to major genetic lineages. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2023;100(3):155–65. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-385> EDN: <https://elibrary.ru/ocpnux>
7. Carr K.A., Lybarger S.R., Anderson E.C., et al. The role of *Bacillus anthracis* germinant receptors in germination and virulence. *Mol. Microbiol.* 2010;75(2):365–75. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2009.06972.x>
8. Ireland J.A.W., Hanna P.C. Amino acid- and purine ribonucleoside-induced germination of *Bacillus anthracis* DeltaSterne endospores: gerS mediates responses to aromatic ring structures. *J. Bacteriol.* 2002;184(5):1296–303. DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.184.5.1296-1303.2002>
9. Weiner M.A., Read T.D., Hanna P.C. Identification and characterization of the gerH operon of *Bacillus anthracis* endospores: a differential role for purine nucleosides in germination. *J. Bacteriol.* 2003;185(4):1462–4. DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.185.4.1462-1464.2003>
10. Fisher N., Hanna P. Characterization of *Bacillus anthracis* germinant receptors *in vitro*. *J. Bacteriol.* 2005;187(23):8055–62. DOI: <https://doi.org/10.1128/JB.187.23.8055-8062.2005>
11. Еременко Е.И., Цыганкова О.И., Рязанова А.Г., Цыганкова Е.А. Прорастание спор возбудителя сибирской язвы. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2006;(1):72–4. Eremenko E.I., Tsygankova O.I., Ryazanova A.G., Tsygankova E.A. Germination of *Bacillus anthracis* spores. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2006;83(1):72–4. EDN: <https://elibrary.ru/jumukx>
12. Moir A. Spore germination receptors — a new paradigm. *Trends Microbiology*. 2023;31(8):767–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2023.05.012>
13. Setlow B., Melly E., Setlow P. Properties of spores of *Bacillus subtilis* blocked at an intermediate stage in spore germination. *J. Bacteriol.* 2001;183(16):4894–9. DOI: <https://doi.org/10.1128/JB.183.16.4894-4899.2001>
14. Guidi-Rontani C., Pereira Y., Ruffie S., et al. Identification and characterization of a germination operon on the virulence plasmid pXOI of *Bacillus anthracis*. *Mol. Microbiol.* 1999;33(2):407–14. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1999.01485.x>
15. Sirard J.C., Guidi-Rontani C., Fouet A., Mock M. Characterization of a plasmid region involved in *Bacillus anthracis* toxin production and pathogenesis. *Int. J. Med. Microbiol.* 2000;290(4-5):313–6. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1438-4221\(00\)80030-2](https://doi.org/10.1016/s1438-4221(00)80030-2)
16. Carr K.A., Janes B.K., Hanna P.C. Role of the gerP operon in germination and outgrowth of *Bacillus anthracis* spores. *PLoS One*. 2010;5(2):e9128. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009128>
17. Еременко Е.И., Рязанова А.Г., Писаренко С.В. и др. Новые генетические маркеры для молекулярного типирования штаммов *Bacillus anthracis*. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019;(3):43–50. Eremenko E.I., Ryazanova A.G., Pisarenko S.V., et al. New genetic markers for molecular typing of *Bacillus anthracis* strains. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2019;(3):43–50. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2019-3-43-50> EDN: <https://elibrary.ru/pgefkd>
18. Pearson T., Busch J.D., Ravel J., et al. Phylogenetic discovery bias in *Bacillus anthracis* using single-nucleotide polymorphisms from whole-genome sequencing. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2004;101(37):13536–41. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0403844101>

19. Derzelle S., Aguilar-Bultet L., Frey J. Whole genome SNP analysis of bovine *B. anthracis* strains from Switzerland reflects strict regional separation of Simmental and Swiss Brown breeds in the past. *Vet. Microbiol.* 2016;196:1–8.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.10.014>
20. Eremenko E., Pechkovskii G., Pisarenko S., et al. Phylogenetics of *Bacillus anthracis* isolates from Russia and bordering

- countries. *Infect. Genet. Evol.* 2021;92:104890.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.104890>
21. Timofeev V., Bahtejeva I., Mironova R., et al. Insights from *Bacillus anthracis* strains isolated from permafrost in the tundra zone of Russia. *PLoS One.* 2019;14(5):e0209140.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209140>

Информация об авторах

Еременко Евгений Иванович[✉] — д.м.н., профессор, г.н.с. лаб. сибирской язвы Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, ejer@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1117-1185>

Рязанова Алла Геннадиевна — к.м.н., зав. лаб. сибирской язвы Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5196-784X>

Печковский Григорий Александрович — м.н.с. лаб. сибирской язвы Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7033-9972>

Писаренко Сергей Владимирович — к.х.н., в.н.с. лаб. биохимии Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-6458-6790>

Ковалев Дмитрий Анатольевич — к.х.н., зав. лаб. биохимии Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9366-5647>

Аксенова Людмила Юрьевна — к.м.н., с.н.с. лаб. сибирской язвы Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7744-3112>

Семенова Ольга Викторовна — к.б.н., н.с. лаб. сибирской язвы Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0274-898X>

Куличенко Александр Николаевич — академик РАН, д.м.н., профессор, директор Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9362-3949>

Вклад авторов: Еременко Е.И. — разработка концепции исследования, анализ данных, написание текста, работа с редакцией журнала; Рязанова А.Г. — дизайн исследования, редактирование текста; Печковский Г.А. — методика и биоинформатическая обработка; Писаренко С.В. — дизайн статьи, анализ данных; Ковалев Д.А. — разработка концепции статьи; Аксенова Л.Ю. — анализ данных, подготовка текста статьи; Семенова О.В. — геномный анализ *in silico*; Куличенко А.Н. — концепция исследования, редактирование текста. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальный вариант до опубликования.

Статья поступила в редакцию 11.01.2024;
принята к публикации 23.03.2024;
опубликована 29.04.2024

Information about the authors

Evgeny I. Eremenko[✉] — D. Sci. (Med.), Prof., chief scientist, Anthrax laboratory, Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russia, ejer@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1117-1185>

Alla G. Ryazanova — Cand. Sci. (Med.), Head, Anthrax laboratory, Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5196-784X>

Grigori A. Pechkovskii — junior researcher, Anthrax laboratory, Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7033-9972>

Sergey V. Pisarenko — Cand. Sci. (Chem.), leading researcher, Laboratory of biochemistry, Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-6458-6790>

Dmitry A. Kovalev — Cand. Sci. (Chem.), Head, Laboratory of biochemistry, Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9366-5647>

Lyudmila Yu. Aksenova — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Anthrax laboratory, Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5196-784X>

Olga V. Semenova — Cand. Sci. (Biol.), researcher, Anthrax laboratory, Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0274-898X>

Alexander N. Kulichenko — D. Sci. (Med.), Prof., Academician of RAS, Director, Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9362-3949>

Author contribution. Eremenko E.I. — development of the research concept, data analysis, writing the text, working with the editorial board of the journal; Ryazanova A.G. — research design, text editing; Pechkovskiy G.A. — methodology and bioinformatics processing; Pisarenko S.V. — article design, data analysis; Kovalev D.A. — development of the concept of the article; Aksenova L.Yu. — data analysis, preparation of the text of the article; Semenova O.V. — genomic analysis *in silico*; Kulichenko A.N. — research concept, text editing. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 11.01.2024;
accepted for publication 23.03.2024;
published 29.04.2024