

УДК 579.61+579.832+616-095

DOI 10.17021/2020.15.2.13.23

© Г.А. Печковский, Л.Д. Тимченко, Е.И. Еременко,
Д.А. Ковалев, А.Н. Куличенко, 2020

ОМИКСНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ИЗУЧЕНИИ *BACILLUS ANTHRACIS*

Печковский Григорий Александрович, младший научный сотрудник, лаборатория сибирской язвы, ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, Россия, 355035, г. Ставрополь, ул. Советская, д. 13-15, тел.: +7-961-497-23-53, e-mail: grigorii.pechkovskii@gmail.com.

Тимченко Людмила Дмитриевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая проблемной научно-исследовательской лабораторией экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии и иммунобиотехнологии Центра коллективного пользования научным оборудованием, ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет», Россия, 355017, г. Ставрополь, ул. Пушкина, д. 1, тел.: +7-905-417-30-22, e-mail: l_timchenko@mail.ru.

Еременко Евгений Иванович, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории сибирской язвы, ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, Россия, 355035, г. Ставрополь, ул. Советская, д. 13-15, тел.: +7-961-454-96-25, e-mail: ejer@mail.ru.

Ковалев Дмитрий Анатольевич, кандидат химических наук, заведующий лабораторией биохимии, ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, Россия, 355035, г. Ставрополь, ул. Советская, д. 13-15, тел.: +7-962-011-55-84, e-mail: kovalev_da.stv@list.ru.

Куличенко Александр Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, Россия, 355035, г. Ставрополь, ул. Советская, д. 13-15, тел.: (8652) 26-03-12, e-mail: stavnipchi@mail.ru.

Представлены результаты актуальных исследований возбудителя сибирской язвы, полученные с помощью омиксных технологий. Описаны основные достижения в области геномики, протеомики, транскриптомики, интерактомики, метаболомики *Bacillus anthracis* в результате применения омиксных технологий. Обсуждена связь развития омиксных технологий и биоинформатики, отражены дальнейшие перспективы и проблемы в этой области.

Ключевые слова: *Bacillus anthracis*, омиксные технологии, геномика, транскриптомика, протеомика.

OMICS TECHNOLOGIES IN THE STUDY OF *BACILLUS ANTHRACIS*

Pechkovskiy Grigoriy A., Junior Research Assistant, Stavropol Research Anti-Plague Institute, 13-15 Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russia, tel.: +7-961-497-23-53, e-mail: grigorii.pechkovskii@gmail.com.

Timchenko Lyudmila D., Dr. Sci. (Vet.), Professor, Head of Laboratory, Center for the sharing of scientific equipment, North-Caucasus Federal University, 1 Pushkin St., Stavropol, 355017, Russia, tel.: +7-905-417-30-22, e-mail: l_timchenko@mail.ru.

Eremenko Evgeniy I., Dr. Sci. (Med.), Professor, Leading Researcher, Stavropol Research Anti-Plague Institute, 13-15 Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russia, tel.: +7-961-454-96-25, e-mail: ejer@mail.ru.

Kovalev Dmitriy A., Cand. Sci. (Chem.), Head Laboratory, Stavropol Research Anti-Plague Institute, 13-15 Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russia, tel.: +7-962-011-55-84, e-mail: kovalev_da.stv@list.ru.

Kulichenko Aleksandr N., Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Director, Stavropol Research Anti-Plague Institute, 13-15 Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russia, tel.: (8652) 26-03-12, e-mail: stavnipchi@mail.ru.

This review presents the results of a current study of the anthrax pathogen obtained using omics technologies. The main achievements in the field of genomics, proteomics, transcriptomics, interactomics, and metabolomics of *Bacillus anthracis* as a result of the use of omics technologies are described. The connection of the development of omics technologies and bioinformatics are discussed; further prospects and problems in this area are reflected.

Key words: *Bacillus anthracis*, "omics" technologies, genomics, transcriptomics, proteomics.

Введение. Англоязычный биологический неологизм «omics», сравнительно недавно ставший общепотребимым, подразумевает поле исследований в биологии, оканчивающихся на «omics», например: genomics, proteomics, metabolomics, то есть геномика, протеомика, метаболомика. «Омики» имеют целью совокупную характеристику и количественную оценку пулов биологических молекул, которые определяют структуру, функции и динамику процессов в организмах. «Омиксными» принято называть технологии, используемые в геномике, транскриптомике, протеомике, метаболомике, которые определяют, как устроен геном и как реализуется закодированная в нем информация. Омиксные технологии нашли применение и в изучении возбудителя сибирской язвы. Исследования *Bacillus anthracis* (*B. anthracis*) имеют значение как для решения практических задач эпидемиологии и диагностики, так и для фундаментальной науки: патогенеза инфекции, процессов взаимодействия патогена и микроорганизма, анализа структурно-функциональных особенностей микробной клетки. Сибирская язва – особо опасная зоонозная инфекция с глобальным распространением, представляющая проблему для сельского хозяйства и здравоохранения многих стран. Контаминация почвы длительно персистирующими спорами делает территории стационарно неблагоприятными по сибирской язве вследствие риска заражения животных и людей. Возбудитель сибирской язвы относится к числу наиболее опасных агентов биологического оружия и терроризма.

Технологии геномики. К первым методам, позволяющим получить представление о геноме *B. anthracis* в целом, можно отнести электрофорез рестрикционных фрагментов в пульсирующем электрическом поле (PFGE) [47] и определение полиморфизма длины амплификационных фрагментов (AFLP). Внутри обширного рода *Bacillus* выделяют группу *Bacillus cereus*, в которую входят наиболее генетически близкие виды *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis* (*B. thuringiensis*) и *Bacillus anthracis*. Их трудно дифференцировать на основании фенотипических и генотипических тестов, высокое сходство дало основание некоторым исследователям считать эти бациллы подвидами одного вида [17].

Анализ 357 полиморфных AFLP-фрагментов полного генома *B. anthracis* и набора бацилл обнаружил высокую вариабельность таксонов, межвидовые отличия *B. anthracis* и других представителей группы *Bacillus cereus* (*B. cereus*). Редкие варианты AFLP-фрагментов у штаммов *B. anthracis* подтверждали представление о высокой генетической мономорфности этого патогена. Одновременно была продемонстрирована филогенетическая структура популяции возбудителя с дихотомией на две главные генетические линии А и В, подтвержденная и дополненная в дальнейших исследованиях [22]. Выявленные AFLP маркеры использованы в разработке системы молекулярного типирования на основе полиморфизма локусов с вариабельным числом tandemных повторов (MLVA) [23].

Следующим шагом стало применение методов секвенирования всего генома, дающих исчерпывающую информацию о последовательности ДНК возбудителя. В 2002 г. была секвенирована первая полная последовательность генома штамма Ames [37], использовали шотган-секвенирование (Shotgun sequencing) библиотек произвольных вставок в плазмидных векторах методом терминаторов Сэнгера с последующей сборкой контигов. Такая методика занимала много времени и потребовала около трех лет усилий нескольких лабораторий.

Дальнейшим развитием технологии стало применение сочетания описанного метода с гибридизацией ампликонов хромосомных и плазмидных генов штамма *B. anthracis* Ames с мечеными ДНК-зондами из геномов *B. anthracis* Ames и других бацилл из группы *Bacillus cereus* на микрочипе. Показано, что почти все хромосомные гены, кодирующие белки, связанные с патогенностью *B. anthracis*, имеют гомологи у штаммов *B. cereus*, обнаружено наличие гомологов плазмиды pXO1 у половины из них, удалось подтвердить генетическую близость и вместе с тем дифференцировать *B. anthracis* от других видов группы *B. cereus* [38].

Изучение всей совокупности генов *B. anthracis*, аннотирование генома стало возможным с применением технологии высокопроизводительного полногеномного секвенирования нового поколения (WGS, NGS). Благодаря высокой скорости этой технологии базы данных стали быстро наполняться последовательностями геномов, в том числе и геномов, в частности штамма *B. anthracis* Ames Ancestor [36], многих других штаммов [12, 20]. Сегодня в базе данных GenBank имеется информация о геномах 233 штаммов *B. anthracis* в разной степени сборки. Прогрессу NGS и аннотирования геномов способствовала разработка биоинформационных программ. Основными технологиями NGS являются секвенирование синтезом («Illumina Qiagen», США), полупроводниковое секвенирование на приборах линий Ion Torrent («Thermo Fisher Scientific», США), пиросеквенирование («Roche», Швейцария). Внедряется принципиально новое секвенирование отдельных молекул с помощью приборов Pac Bio («Pacific Biosciences», США), а также нанопоровое секвенирование («Oxford Nanopore Technologies», Великобритания). Геномика позволила уточнить филогенетику [35, 43], эволюцию

B. anthracis [21], создать новые диагностические тесты [30, 39].

Развитие геномики дало большой толчок в развитии других высокопроизводительных технологий. Возник целый ряд таких областей науки, как транскриптомика, протеомика, метаболомика, интерактомика, эпигеномика, феномика и т.д., что повлекло за собой развитие компьютерного анализа данных или биоинформатики. Современные технологии, используемые в этих областях науки, стали применяться и для изучения *B. anthracis*.

Технологии транскриптомики. Транскриптомика – наука, которая изучает совокупность молекул РНК в клетке. Методы транскриптомики можно разделить на два самых значимых – гибридационный микрочип-анализ (микроэрей – microarray) и РНК-секвенирование. Технология микрочип-анализа заключается в использовании ДНК-чипа с большим количеством специфических ДНК-зондов, каждый из которых расположен в отдельной миниатюрной лунке. Молекулу РНК подвергают обратной транскрипции, получившуюся комплементарную ДНК метят флуорофором и гибридную с иммобилизированной ДНК на чипе. Затем проводят детекцию флуоресцентного сигнала и измеряют его уровень [6, 18].

В первых транскриптомных исследованиях на микрочипах изучали жизненный цикл штамма *B. anthracis* 34F2 на культуральных средах общего назначения. В процессе развития от зрелых вегетативных клеток до образования спор наблюдается 5 волн экспрессии генов [26]. Затем был изучен уже полный цикл от прорастания спор до споруляции, который происходит в течение 8 часов. Наличие 5 кластеров или волн экспрессии было подтверждено. Благодаря совершенствованию техники анализа данные об экспрессии генов были уточнены, расширены и обобщены [4].

B. anthracis имеет сложный жизненный цикл, в том числе внутри организма хозяина, и поэтому для раскрытия отдельных аспектов физиологии бактерии было важно приблизить условия культивирования *in vitro* к реальным условиям жизни *B. anthracis*.

Транскриптомный профиль при аэробных условиях заметно отличается от экспрессии при повышенном содержании CO₂ и бикарбонат-иона в условиях, имитирующих внутреннюю среду организма хозяина. Кроме того, показано, что у штамма *B. anthracis* 34F2 он более схож с таковым у патогенного штамма *B. cereus* G9241, выделенного от больного с пневмонией, чем с профилем непатогенного штамма *B. cereus* 10987 [31]. При моделировании железодефицитных условий наблюдалось изменение транскриптома *B. anthracis* 34F2 и кластеризация генов по уровню экспрессии на 4 группы в зависимости от фазы роста [8]. Имитация оксидативного стресса у штамма 34F2 и штамма 34F2 с делецией гена *sodA1*, кодирующего супероксиддисмутазу, выявила изменение во многих системах метаболизма [34]. Полногеномный анализ транскриптома показал, что штамм *B. anthracis* 34F2 в процессе роста *in vitro* в бычьей крови подвергается значительным изменениям в транскриптомном профиле, включающим в себя дифференцированную регуляцию генов, связанных как с метаболизмом, так и с известными факторами вирулентности [7].

Сибирская язва – это сложный многоэтапный инфекционный процесс. В него вовлечено большинство систем организма, прежде всего иммунная система, ее клеточный и гуморальный компоненты. Особую роль при сибирской язве отводят макрофагальной составляющей клеточного иммунитета. Одной из сторон взаимодействия макрофага и *B. anthracis* в патогенезе сибирской язвы является перенос спор макрофагами, который многие склонны были рассматривать как процесс скрытой от антибактериальной функции антител диссеминации возбудителя по типу «тройного коня» [16]. По мере выполнения исследований, в том числе и с помощью омиксных технологий, установлено, что между *B. anthracis* и макрофагами происходят сложные молекулярные взаимодействия, а не только перенос инфекта.

В исследовании на микрочипах с генами *B. anthracis* при инкубации с макрофагами линии RAW 264.7 применяли методики для насыщения РНК *B. anthracis*, так как количество РНК *B. anthracis* меньше, чем РНК макрофагов, что позволило получить дифференцированные данные об экспрессии бактериальных генов. Обнаружено, что *B. anthracis* может очень быстро адаптироваться к внутриклеточной среде. Экспрессия генов значительно изменяется в период с 1 до 2 часа инфекции, было найдено 1100 генов со сниженной экспрессией белков, ассоциированных со споруляцией/герминацией, профаговыми функциями и с повышенной экспрессией белков, ответственных за энергетический метаболизм и транспорт веществ. После 2 часов инфекции изменение экспрессии генов было незначительным [3].

Было выполнено 3 транскриптомных эксперимента на микрочипах в разных модельных системах. При инфицировании макрофагов RAW 264.7 штаммом Sterne 34F2 удалось обнаружить, что 493 гена макрофагов значимо изменяют свою экспрессию в ранней стадии и 480 генов –

в поздней [2]. При инфицировании штаммами *B. anthracis* Sterne pXO1+ pXO1- и *B. anthracis* Ames pXO1+ pXO2+ альвеолярных макрофагов макаки резус в разные временные интервалы были найдены 528 белков, ортологичных белкам человека, которые изменяют свою экспрессию. Также была выявлена разная временная динамика инфекционного процесса, вызванного разными штаммами, более быстрая у штамма Sterne по сравнению со штаммом Ames. При инфекции штаммом Sterne индуцируются 24 антиапоптотических гена, при этом штамм Ames индуцирует 14 проапоптотических гена. Найдена достаточно большая разница в цитокиновом профиле [25]. При взаимодействии штамма *B. anthracis* Sterne XO1+ pXO1- с альвеолярными макрофагами человека было идентифицировано 209 генов с достоверно повышенной экспрессией и 61 ген – с достоверно пониженной. Обнаружено увеличение таких важных цитокинов, как TNF- α и NF- κ B, а также таких транскрипционных факторов, как c-Myb, CP2, Barbie Box, E2F и CRE-BP1. При этом определена функциональная принадлежность генов с измененной экспрессией, они относятся к широкому спектру функциональных семейств (апоптоз, пролиферация, клеточный рост и метаболизм) и включают как гены, экспрессирующиеся при многих других бактериальных инфекциях, так и характерные только для сибирской язвы [13].

Профиль экспрессии первичных человеческих альвеолярных эпителиальных клеток типа I изменяется при воздействии на них спор *B. anthracis* Sterne 7702, что предполагает активное участие *B. anthracis* в патогенезе уже при попадании в легкие хозяина [5].

Метод микрочипов имеет ограничения – зависимость от качества существующей сборки генома, высокий уровень шума, низкое отношение шум/сигнал, сложность в сравнении данных различных экспериментов. Для РНК-секвенирования (RNAseq) используют технологии высокопроизводительного секвенирования. Для этого популяция тотальной или фракционированной РНК конвертируется в библиотеку фрагментов кДНК с адаптерами, прикрепленными к одному или обоим концам. Каждая молекула секвенируется для получения коротких последовательностей с одного или с обоих концов. Размеры ридов составляют 30–400 п.н., в зависимости от используемой технологии секвенирования ДНК. После секвенирования получившиеся риды либо выравниваются на референсный геном или на референсные транскрипты, либо собираются *denovo* без геномной последовательности с тем, чтобы получить полногеномную транскрипционную карту, которая включает как транскрипционную структуру, так и/или уровень экспрессии каждого гена. Таким образом, напрямую определяется нуклеотидная последовательность, демонстрируются не только качественные и количественные изменения, но и нуклеотидные замены и постранскрипционные модификации [45].

РНК секвенирование Sterne 34F2 в разных условиях роста (время культивирования и наличие углекислого газа) позволило создать транскрипционную карту высокого разрешения, уточнить структурную организацию и аннотацию генома, выявить достаточную согласованность полученных результатов. Также эти данные предполагают гетерогенность в клоновой синхронизированной популяции бактерий [33]. Биоинформационный анализ данных РНК секвенирования позволил улучшить аннотацию генома, добавил в нее порядка сотни генов, упущенных при компьютерной аннотации [28]. В различных условиях стресса (спиртовой (6 % этанол), холодовой (17° C) и осмотический (0,75M NaCl) стресс) меняется как смысловая, так и антисмысловая транскрипция по сравнению с условиями роста на богатой питательной среде, причем антисмысловая транскрипция в большей степени сосредоточена на отстающей цепи ДНК. Эти данные предполагают регуляторное влияние антисмысловой транскрипции ДНК [32].

Технологии протеомики. Следующим важным уровнем изучения клетки является анализ белкового спектра. Научное направление, основанное на изучении полных наборов белков, их качественный и количественный анализ в клетке, называется протеомикой. На сегодняшний день методы протеомики используют для решения широкого круга задач – от клинических исследований до фундаментальной науки [44]. Технологии протеомики классифицируются по способу разделения белков и типу масс-спектрометрии. Можно выделить две группы – гель-зависимые, то есть различные вариации двумерного электрофореза с масс-спектрометрической идентификацией белков, и гель-независимые, включающие в себя хроматографию, масс-спектрометрию и их сочетания, они являются более высокопроизводительными [1].

Методами протеомики изучаются секретрируемые белки – секретом или экзопротеом. Внеклеточные протеомы бесплазмидных *B. cereus*, *B. thuringiensis* и *B. anthracis* состоят из белков клеточной стенки, транспортных белков, среди них много гомологичных белков, но протеомы этих трех видов бацилл имеют различия. У штамма *B. anthracis* (pXO1- pXO2-), в отличие от других *Bacillus*, обнаружена лишь одна протеаза, InhA1, возможно, из-за влияния отсутствия плазмид или условий культивирования [15]. При двумерном электрофорезе секретомы штаммов *B. anthracis* RA3 (pXO1+ pXO2+),

RA3R (pXO1+ pXO2-) и RA3:00 (pXO1- pXO2-), выращенных в анаэробных условиях, выявлено 57 белков. При этом каждый протеом характеризуется как своими уникальными, так и представленными в других протеомах белками [24].

Исследования секрета вирулентного штамма Vollum (pXO1+ pXO2+) и авирулентных, бесплазмидных штаммов Vollum и 14185, выращенных на богатых и бедных питательных средах, а также в аэробных и анаэробных условиях методом двумерного электрофореза, позволили идентифицировать 64 белка. Показано, что при культивировании в атмосфере с повышенным содержанием углекислого газа представленность секрета выше, даже в минимальных средах [10]. С помощью двумерного электрофореза с последующим вестерн-блотом с сывороткой против *B. anthracis* было установлено, что 49 из этих белков иммуногенны. Среди иммуноактивных идентифицированы белки как с хорошо известными иммунореактивными свойствами – протективный антиген или белки клеточной оболочки, так и белки с неизвестной функцией, например, BA0799 и BA0796 [11].

В эксперименте при инкубации активных и инактивированных спор *B. anthracis* штамма Sterne 34F2 (pXO1+ pXO2-) с клеточной линией макрофагов RAW 264.7 методом двумерного электрофореза идентифицированы белки макрофагов [41]. Методом MALDI-TOF/MS был идентифицирован 21 белок макрофагов, относящийся к группам регуляции цитоскелета, апоптоза, клеточного деления и белковой деградации. При двумерном электрофорезе только белков митохондриальной фракции обнаружено 13 митохондриальных белков с измененной экспрессией ATP5b, NIAP-5, ras-related GTP binding protein B isoform CRAa, а также несколько не охарактеризованных белков. Ингибирование ATP5b уменьшает продукцию АТФ в макрофагах [40].

Применение методов bottom-up и top-down протеомики в сочетании с геномным и биоинформационным анализом позволило идентифицировать 11 специфических белковых маркеров, характерных для спор *B. anthracis*, но отличных от спор других близких видов *Bacillus*, в том числе крайне схожих *B. thuringiensis* 9727, *B. cereus biovar anthracis* CI и CA. Такие белки могут служить маркерами при идентификации *B. anthracis* [9].

С использованием LC-MS/MS технологии показано, что наблюдаются значительные различия в белковом профиле спор, соответствующие разным функциональным классам, при спорообразовании в стандартных лабораторных средах и почвенных средах, а также при разных температурах. Интересно, что при этом увеличивается ABC транспортер, участвующий в обмене фосфатов и антимикробных пептидов [46].

Преимущество методов протеомики перед транскриптомикой заключается в возможности определять различные посттрансляционные изменения белков, как последовательностей, так и посттрансляционных модификаций. Описано уже более 200 различных модификаций, таких как фосфорилирование, убиквитирование и ацетилирование. Они ответственны за многие регуляторные механизмы, при этом одним из самых частых посттрансляционных модификаций белков является фосфорилирование. Во многих случаях оно требуется для активации и деактивации белков [19].

При инфекции восприимчивых мышей линии DBA/2J штаммом *B. anthracis* Sterne 34F2 выявляются 26 фосфопротеинов с измененной концентрацией, определенных из селезенки методом количественной фосфопротеомики. Экспрессия этих белков похожа у штамма Sterne 34F2 и у штамма Sterne 34F2, лишённого плазмиды pXO1. Такие белки предполагается использовать для создания средств ранней диагностики сибирской язвы [27].

Другие омиксные технологии. Большое значение имеет не только исследование количественной и качественной экспрессии генов возбудителя сибирской язвы, но и прямое взаимодействие между биомолекулами в системе хозяин – *B. anthracis*. Такие результаты можно получить с помощью интерактомики – технологий изучения взаимодействий биомолекул с использованием методов высокопроизводительного анализа. Так, при исследовании взаимодействия белков (high-throughput yeast two-hybrid assay) *Bacillus anthracis*, *Francisella tularensis*, *Yersinia pestis* и белков человека, среди 250 000 вариантов было найдено 3073 белок-белковых взаимодействий, из них 1748 белков человека и 943 белка *B. anthracis* (285 неохарактеризованных). Взаимодействия включают факторы внутреннего иммунитета, воспаления (IL-8RB, NF-kB и Bcl-6), функциональные регуляторы [14].

Одной из быстро развивающихся омиксных технологий является метаболомика, позволяющая производить глобальную оценку количества эндогенных метаболитов (малых молекул), а следовательно, физиологического состояния биологической системы [42]. Метаболомный анализ крови и органов мыши при сибирской язве позволил идентифицировать 400 метаболитов. Такие метаболиты могут служить биомаркерами инфекции. Значительные изменения в метаболизме липидов допускают их важную роль в развитии сибирской язвы [29].

Омиксные технологии неразрывно связаны с биоинформационным анализом полученных с их использованием данных, который, по сути, является прямым продолжением лабораторного эксперимента. Большие объемы получаемой при этом информации требуют наличия высокопроизводительных компьютерных программ, алгоритмов и соответствующей вычислительной техники для их обработки. Стоит выделить проблемы, возникающие при анализе данных. От исследования к исследованию используются разные алгоритмы, методики или пайплайны (pipeline – серия процессов в биоинформатике, обычно линейных, которые фильтруют или преобразуют данные), разные программы, что может вносить искажения в интерпретацию результатов. Биоинформатика – это молодая, бурно развивающаяся наука, при этом биоинформационные программы постоянно обновляются, поэтому анализ одних и тех же данных в разное время может дать разные результаты. Хранение информации – это отдельная задача в омиксных исследованиях. На сегодняшний день существуют и активно используются специализированные базы данных (GenBank, Uniprot, PRIDE, KEGG, и т.д.).

Заключение. Омиксные технологии становятся все более востребованными в исследованиях патогенных микроорганизмов. На примере возбудителя сибирской язвы можно отчетливо проследить развитие этих технологий в геномике, протеомике, транскриптомике. Исследования, проведенные с использованием омиксных технологий, позволили создать систему молекулярного типирования *B. anthracis* для решения задач в области эпидемиологии сибирской язвы, таксономии, филогенетики и эволюции этого вида микроорганизмов. Получены важные сведения о физиологии сибиреязвенного микроба и патогенезе сибирской язвы, взаимодействии на уровне патоген/организм хозяина, которые могут быть использованы в разработке средств терапии и профилактики сибиреязвенной инфекции.

Существуют некоторые сложности в оценке результатов применения омиксных технологий. Методические подходы (пробоподготовка, культивирование бактерий, хранение) отличаются у разных экспериментаторов, что может обуславливать неоднозначность данной оценки.

Параллельно с развитием технологий прогрессируют методы биоинформационного анализа, в экспериментальной работе с *B. anthracis* для обработки данных используются разные биоинформационные платформы и международные базы данных.

Таким образом, омиксные технологии – это действительно важный и мощный инструмент исследования *B. anthracis*. Особенно результативно такие технологии позволяют комплексно и всесторонне охарактеризовать возбудитель сибирской язвы. Широкое их применение позволит внести заметный вклад в расширение представлений о многих аспектах биологии сибиреязвенного микроба и вызываемой им инфекции.

Список литературы

1. Baggerman, G. Gel-based versus gel-free proteomics: a review / G. Baggerman, E. Vierstraete, A. De Loof, L. Schoofs // *Combinatorial chemistry & high throughput screening*. – 2005. – Vol. 8, № 8. – P. 669–677.
2. Bergman, N. H. Murine macrophage transcriptional responses to *Bacillus anthracis* infection and intoxication / N. H. Bergman, K. D. Passalacqua, R. Gaspard, L. M. Shetron-Rama, J. Quackenbush, P. C. Hanna // *Infection and immunity*. – 2005. – Vol. 73, № 2. – P. 1069–1080.
3. Bergman, N. H. Transcriptional profiling of *Bacillus anthracis* during infection of host macrophages / N. H. Bergman, E. C. Anderson, E. E. Swenson, B. K. Janes, N. Fisher, M. M. Niemeyer, A. D. Miyoshi, P. C. Hanna // *Infection and immunity*. – 2007. – Vol. 75, № 7. – P. 3434–3444.
4. Bergman, N. H. Transcriptional profiling of the *Bacillus anthracis* life cycle in vitro and an implied model for regulation of spore formation / N. H. Bergman, E. C. Anderson, E. E. Swenson, M. M. Niemeyer, A. D. Miyoshi, P. C. Hanna // *Journal of bacteriology*. – 2006. – Vol. 188, № 17. – P. 6092–6100.
5. Booth, J. L. Gene expression profiling of primary human type I alveolar epithelial cells exposed to *Bacillus anthracis* spores reveals induction of neutrophil and monocyte chemokines / J. L. Booth, E. S. Duggan, V. I. Patel, W. Wu, D. M. Burian, D. C. Hutchings, V. L. White, K. M. Coggeshall, M. G. Dozmorov, J. P. Metcalf // *Microbial pathogenesis*. – 2018. – Vol. 121. – P. 9–21.
6. Brown, P. O. Exploring the new world of the genome with DNA microarrays / P. O. Brown, D. Botstein // *Nature genetics*. – 1999. – Vol. 21, № 1. – P. 33–37.
7. Carlson, P. E. Jr. Global gene expression by *Bacillus anthracis* during growth in mammalian blood / P. E. Jr. Carlson, A. E. T. Bourgis, A. K. Hagan, P. C. Hanna // *Pathogens and disease*. – 2015. – Vol. 73, № 8. doi: 10.1093/femspd/ftv061.
8. Carlson, P. E. Jr. Transcriptional profiling of *Bacillus anthracis* Sterne (34F2) during iron starvation / P. E. Jr. Carlson, K. A. Carr, B. K. Janes, E. C. Anderson, P. C. Hanna // *PLoS One*. – 2009. – Vol. 4, № 9. – P. e 6988.
9. Chenau, J. Identification and validation of specific markers of *Bacillus anthracis* spores by proteomics and genomics approaches / J. Chenau, F. Fenaille, V. Caro, M. Haustant, L. Diancourt, S. R. Klee, C. Junot, E. Ezan, P. L. Goossens, F. Becher // *Molecular & Cellular Proteomics*. – 2014. – Vol. 13, № 3. – P. 716–732.

10. Chitlaru, T. Differential proteomic analysis of the *Bacillus anthracis* secretome: distinct plasmid and chromosome CO₂-dependent cross talk mechanisms modulate extracellular proteolytic activities / T. Chitlaru, O. Gat, Y. Gozlan, N. Ariel, A. Shafferman // *Journal of bacteriology*. – 2006. – Vol. 188, № 10. – P. 3551–3571.
11. Chitlaru, T. Identification of in vivo-expressed immunogenic proteins by serological proteome analysis of the *Bacillus anthracis* secretome / T. Chitlaru, O. Gat, H. Grosfeld, I. Inbar, Y. Gozlan, A. Shafferman // *Infection and immunity*. – 2007. – Vol. 75, № 6. – P. 2841–2852.
12. Daligault, H. E. Twenty Whole-Genome *Bacillus* sp. Assemblies / H. E. Daligault, K. W. Davenport, T. D. Minogue, K. A. Bishop-Lilly, S. M. Broomall, D. C. Bruce, P. S. Chain, S. R. Coyne, K. G. Frey, H. S. Gibbons, J. Jaissle, G. I. Koroleva, J. T. Ladner, C. C. Lo, C. Munk, G. F. Palacios, C. L. Redden, C. N. Rosenzweig, M. B. Scholz, S. L. Johnson // *Genome Announc.* – 2014. – Vol. 2, № 5. – P. e00958-14. doi: 10.1128/genomeA.00958-14.
13. Dozmorov, M. Gene expression profiling of human alveolar macrophages infected by *B. anthracis* spores demonstrates TNF-alpha and NF-kappaB are key components of the innate immune response to the pathogen / M. Dozmorov, W. Wu, K. Chakrabarty, J. L. Booth, R. E. Hurst, K. M. Coggeshall, J. P. Metcalf // *BMC infectious diseases*. – 2009. – Vol. 9, № 1. – P. 152.
14. Dyer, M. D. The human-bacterial pathogen protein interaction networks of *Bacillus anthracis*, *Francisella tularensis*, and *Yersinia pestis* / M. D. Dyer, C. Neff, M. Dufford, C. G. Rivera, D. Shattuck, J. Bassaganya-Riera, T. M. Murali, B. W. Sobral // *PloS one*. – 2010. – Vol. 5, № 8. – P. e12089. doi: 10.1371/journal.pone.0012089.
15. Gohar, M. A comparative study of *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus anthracis* extracellular proteomes / M. Gohar, N. Gilois, R. Graveline, C. Garreau, V. Sanchis, D. Lereclus // *Proteomics*. – 2005. – Vol. 5, № 14. – P. 3696–3711.
16. Guidi-Rontani, C. The alveolar macrophage: The Trojan horse of *Bacillus anthracis* / C. Guidi-Rontani // *Trends in microbiology*. – 2002. – Vol. 10, № 9. – P. 405–409.
17. Helgason, E. *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis*—one species on the basis of genetic evidence / E. Helgason, O. A. Okstad, D. A. Caugant, H. A. Johansen, A. Fouet, M. Mock, I. Hegna, A. B. Kolsto // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2000. – Vol. 66, № 6. – P. 2627–2630.
18. Hoheisel, J. D. Microarray technology: beyond transcript profiling and genotype analysis / J. D. Hoheisel // *Nature reviews genetics*. – 2006. – Vol. 7, № 3. – P. 200–210.
19. Humphrey, S. J. Protein Phosphorylation: A Major Switch Mechanism for Metabolic Regulation / S. J. Humphrey, D. E. James, M. Mann // *Trends in Endocrinology & Metabolism*. – 2015. – Vol. 26, № 12. – P. 676–687.
20. Johnson, S. L. Complete genome sequences for 35 biothreat assay-relevant *Bacillus* species / S. L. Johnson, H. E. Daligault, K. W. Davenport, J. Jaissle, K. G. Frey, J. T. Ladner, S. M. Broomall, K. A. Bishop-Lilly, D. C. Bruce, H. S. Gibbons, S. R. Coyne, C. C. Lo, L. Meincke, A. C. Munk, G. I. Koroleva, C. N. Rosenzweig, G. F. Palacios, C. L. Redden, T. D. Minogue, P. S. Chain // *Genome Announc.* – 2015. – Vol. 3, № 2. – P. e00151-15. doi: 10.1128/genomeA.00151-15.
21. Keim, P. Anthrax molecular epidemiology and forensics: using the appropriate marker for different evolutionary scales / P. Keim, M. N. Van Ert, T. Pearson, A. J. Vogler, L. Y. Huynh, D. M. Wagner // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2004. – Vol. 4, № 3. – P. 205–213.
22. Keim, P. Molecular evolution and diversity in *Bacillus anthracis* as detected by amplified fragment length polymorphism markers / P. Keim, A. Kalif, J. Schupp, K. Hill, S. E. Travis, K. Richmond, D. M. Adair, M. Hugh-Jones, C. R. Kuske, P. Jackson // *Journal of bacteriology*. – 1997. – Vol. 179, № 3. – P. 818–824.
23. Keim, P. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis* / P. Keim, L. B. Price, A. M. Klevytska, K. L. Smith, J. M. Schupp, R. Okinaka, P. J. Jackson, M. E. Hugh-Jones // *Journal of bacteriology*. – 2000. – Vol. 182, № 10. – P. 2928–2936.
24. Lamonica, J. M. Comparative secretome analyses of three *Bacillus anthracis* strains with variant plasmid contents / J. M. Lamonica, M. Wagner, M. Eschenbrenner, L. E. Williams, T. L. Miller, G. Patra, V. G. DelVecchio // *Infection and immunity*. – 2005. – Vol. 73, № 6. – P. 3646–3658.
25. Langel, F. D. Alveolar macrophages infected with Ames or Sterne strain of *Bacillus anthracis* elicit differential molecular expression patterns / F. D. Langel, C. Y. Chiang, D. Lane, T. Kenny, J. F. Ojeda, Y. Zhong, J. Che, Y. Zhou, W. Ribot, K. P. Kota, S. Bavari, R. G. Panchal // *PloS one*. – 2014. – Vol. 9, № 2. – P. e87201. doi: 10.1371/journal.pone.0087201.
26. Liu, H. Formation and composition of the *Bacillus anthracis* endospore / H. Liu, N. H. Bergman, B. Thomason, S. Shallom, A. Hazen, J. Crossno, D. A. Rasko, J. Ravel, T. D. Read, S. N. Peterson, J. 3rd Yates, P. C. Hanna // *Journal of bacteriology*. – 2004. – Vol. 186, № 1. – P. 164–178.
27. Manes, N. P. Discovery of mouse spleen signaling responses to anthrax using label-free quantitative phosphoproteomics via mass spectrometry / N. P. Manes, L. Dong, W. Zhou, X. Du, N. Reghu, A. C. Kool, D. Choi, C. L. Bailey, E. F. 3rd Petricoin, L. A. Liotta, S. G. Popov // *Molecular & Cellular Proteomics*. – 2011. – Vol. 10, № 3. doi: 10.1074/mcp.M110.000927.
28. Martin, J. *Bacillus anthracis* genome organization in light of whole transcriptome sequencing / J. Martin, W. Zhu, K. D. Passalacqua, N. Bergman, M. Borodovsky // *BMC bioinformatics*. – BioMed Central, 2010. – Vol. 11, № S3. – P. S10. doi: 10.1186/1471-2105-11-S3-S10.

29. Nguyen, C. T. Global metabolomic analysis of a mammalian host infected with *Bacillus anthracis* / C. T. Nguyen, V. Shetty, A. W. Maresso // *Infection and immunity*. – 2015. – Vol. 83, № 12. – P. 4811–4825.
30. Ogawa, H. A novel multiplex PCR discriminates *Bacillus anthracis* and its genetically related strains from other *Bacillus cereus* group species / H. Ogawa, D. Fujikura, M. Ohnuma, N. Ohnishi, B. M. Hang'ombe, H. Mimuro, T. Ezaki, A. S. Mweene, H. Higashi // *PLoS One*. – 2015. – Vol. 10, № 3. – P. e 0122004. doi: 10.1371/journal.pone.0122004.
31. Passalacqua, K. D. Comparative transcriptional profiling of *Bacillus cereus* sensu lato strains during growth in CO₂-bicarbonate and aerobic atmospheres / K. D. Passalacqua, A. Varadarajan, B. Byrd, N. H. Bergman // *PloS one*. – 2009. – Vol. 4, № 3. – P. e 4904. doi: 10.1371/journal.pone.0004904.
32. Passalacqua, K. D. Strand-specific RNA-seq reveals ordered patterns of sense and antisense transcription in *Bacillus anthracis* / K. D. Passalacqua, A. Varadarajan, C. Weist, B. D. Ondov, B. Byrd, T. D. Read, N. H. Bergman // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7, № 8. – P. e 43350. doi: 10.1371/journal.pone.0043350.
33. Passalacqua, K. D. Structure and complexity of a bacterial transcriptome / K. D. Passalacqua, A. Varadarajan, B. D. Ondov, D. T. Okou, M. E. Zwick, N. H. Bergman // *Journal of bacteriology*. – 2009. – Vol. 191, № 10. – P. 3203–3211.
34. Passalacqua, K. D. The global transcriptional responses of *Bacillus anthracis* Sterne (34F₂) and a Δ sodA1 mutant to paraquat reveal metal ion homeostasis imbalances during endogenous superoxide stress / K. D. Passalacqua, N. H. Bergman, J. Y. Lee, D. H. Sherman, P. C. Hanna // *Journal of bacteriology*. – 2007. – Vol. 189, № 11. – P. 3996–4013.
35. Pearson, T. Phylogenetic discovery bias in *Bacillus anthracis* using single-nucleotide polymorphisms from whole-genome sequencing / T. Pearson, J. D. Busch, J. Ravel, T. D. Read, S. D. Rhoton, J. M. U'Ren, T. S. Simonson, S. M. Kachur, R. R. Leadem, M. L. Cardon, M. N. Van Ert, L. Y. Huynh, C. M. Fraser, P. Keim // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2004. – Vol. 101, № 37. – P. 13536–13541.
36. Ravel, J. The complete genome sequence of *Bacillus anthracis* Ames “Ancestor” / J. Ravel, L. Jiang, S. T. Stanley, M. R. Wilson, R. S. Decker, T. D. Read, P. Worsham, P. S. Keim, S. L. Salzberg, C. M. Fraser-Liggett, D. A. Rasko // *Journal of bacteriology*. – 2009. – Vol. 191, № 1. – P. 445–446.
37. Read, T. D. Comparative genome sequencing for discovery of novel polymorphisms in *Bacillus anthracis* / T. D. Read, S. L. Salzberg, M. Pop, M. Shumway, L. Umayam, L. Jiang, E. Holtzapple, J. D. Busch, K. L. Smith, J. M. Schupp, D. Solomon, P. Keim, C. M. Fraser // *Science*. – 2002. – Vol. 296, № 5575. – P. 2028–2033.
38. Read, T. D. The genome sequence of *Bacillus anthracis* Ames and comparison to closely related bacteria / T. D. Read, S. N. Peterson, N. Tourasse, L. W. Baillie, I. T. Paulsen, K. E. Nelson, H. Tettelin, D. E. Fouts, J. A. Eisen, S. R. Gill, E. K. Holtzapple, O. A. Okstad, E. Helgason, J. Rilstone, M. Wu, J. F. Kolonay, M. J. Beanan, R. J. Dodson, L. M. Brinkac, M. Gwinn, R. T. DeBoy, R. Madpu, S. C. Daugherty, A. S. Durkin, D. H. Haft, W. C. Nelson, J. D. Peterson, M. Pop, H. M. Khouri, D. Radune, J. L. Benton, Y. Mahamoud, L. Jiang, I. R. Hance, J. F. Weidman, K. J. Berry, R. D. Plaut, A. M. Wolf, K. L. Watkins, W. C. Nierman, A. Hazen, R. Cline, C. Redmond, J. E. Thwaite, O. White, S. L. Salzberg, B. Thomason, A. M. Friedlander, T. M. Koehler, P. C. Hanna, A. B. Kolstø, C. M. Fraser // *Nature*. – 2003. – Vol. 423, № 6935. – P. 81–86.
39. Riojas, M. A. Multiplex PCR for species-level identification of *Bacillus anthracis* and detection of pXO1, pXO2, and related plasmids / M. A. Riojas, K. Kiss, M. L. McKee, M. H. Hazbón // *Health security*. – 2015. – Vol. 13, № 2. – P. 122–129.
40. Seo, G. M. *Bacillus anthracis* spores influence ATP synthase activity in murine macrophages / G. M. Seo, K. H. Jung, S. J. Kim, J. C. Kim, J. W. Yoon, K. K. Oh, J. H. Lee, Y. G. Chai // *Journal of microbiology and biotechnology*. – 2008. – Vol. 18, № 4. – P. 778–783.
41. Seo G. M. Targeting of *Bacillus anthracis* interaction factors for human macrophages using two-dimensional gel electrophoresis / G. M. Seo, S. J. Kim, J. C. Kim, D. H. Nam, M. Y. Yoon, B. S. Koo, Y. G. Chai // *Biochemical and biophysical research communications*. – 2004. – Vol. 322, № 3. – P. 854–859.
42. Spratlin, J. L. Clinical applications of metabolomics in oncology: a review / J. L. Spratlin, N. J. Serkova, S. G. Eckhardt // *Clinical cancer research*. – 2009. – Vol. 15, № 2. – P. 431–440.
43. Van Ert, M. N. Global genetic population structure of *Bacillus anthracis* / M. N. Van Ert, W. R. Easterday, L. Y. Huynh, R. T. Okinaka, M. E. Hugh-Jones, J. Ravel, S. R. Zanecki, T. Pearson, T. S. Simonson, J. M. U'Ren, S. M. Kachur, R. R. Leadem-Dougherty, S. D. Rhoton, G. Zinser, J. Farlow, P. R. Coker, K. L. Smith, B. Wang, L. J. Kenefic, C. M. Fraser-Liggett, D. M. Wagner, P. Keim // *PloS one*. – 2007. – Vol. 2, № 5. – P. e 461. doi: 10.1371/journal.pone.0000461.
44. Vitzthum, F. Proteomics: from basic research to diagnostic application. A review of requirements & needs / F. Vitzthum, F. Behrens, N. L. Anderson, J. H. Shaw // *Journal of proteome research*. – 2005. – Vol. 4, № 4. – P. 1086–1097.
45. Wang, Z. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics / Z. Wang, M. Gerstein, M. Snyder // *Nature reviews genetics*. – 2009. – Vol. 10, № 1. – P. 57–63.
46. Wunschel, D. S. Proteomic signatures differentiating *Bacillus anthracis* Sterne sporulation on soil relative to laboratory media / D. S. Wunschel, J. R. Hutchison, B. L. Deatherage Kaiser, E. D. Merkle, B. M. Hess, A. Lin, M. G. Warner // *Analyst*. – 2018. – Vol. 143, № 1. – P. 123–132.

47. Zhong, W. Differentiation of *Bacillus anthracis*, *B. cereus*, and *B. thuringiensis* by using pulsed-field gel electrophoresis / W. Zhong, Y. Shou, T. M. Yoshida, B. L. Marrone // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2007. – Vol. 73, № 10. – P. 3446–3449.

References

1. Baggerman G., Vierstraete E., De Loof A., Schoofs L. Gel-based versus gel-free proteomics: a review. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2005, vol. 8, no. 8, pp. 669–677. doi: 10.2174/138620705774962490.
2. Bergman N. H., Passalacqua K. D., Gaspard R., Shetron-Rama L. M., Quackenbush J., Hanna P. C. Murine macrophage transcriptional responses to *Bacillus anthracis* infection and intoxication. *Infect. Immun.*, 2005, vol. 73, no. 2, pp. 1069–1080. doi: 10.1128/IAI.73.2.1069–1080.2005.
3. Bergman N. H., Anderson E. C., Swenson E. E., Janes B. K., Fisher N., Niemeyer M. M., Miyoshi A. D., Hanna P. C. Transcriptional profiling of *Bacillus anthracis* during infection of host macrophages. *Infect Immun.*, 2007, vol. 75, no. 7, pp. 3434–3444. doi: 10.1128/IAI.01345-06.
4. Bergman N. H., Anderson E. C., Swenson E. E., Niemeyer M. M., Miyoshi A. D., Hanna P. C. Transcriptional profiling of the *Bacillus anthracis* life cycle in vitro and an implied model for regulation of spore formation. *J. Bacteriol.*, 2006, vol. 188, no. 17, pp. 6092–6100. doi: 10.1128/JB.00723-06.
5. Booth J. L., Duggan E. S., Patel V. I., Wu W., Burian D. M., Hutchings D. C., White V. L., Coggeshall K. M., Dozmorov M. G., Metcalf J. P. Gene expression profiling of primary human type I alveolar epithelial cells exposed to *Bacillus anthracis* spores reveals induction of neutrophil and monocyte chemokines. *Microb. Pathog.*, 2018, vol. 121, pp. 9–21. doi: 10.1016/j.micpath.2018.04.039.
6. Brown P. O., Botstein D. Exploring the new world of the genome with DNA microarrays. *Nat. Genet.*, 1999, vol. 21, no. 1, pp. 33–37. doi: 10.1038/4462.
7. Carlson P. E. Jr., Bourgis A. E. T., Hagan A. K., Hanna P. C. Global gene expression by *Bacillus anthracis* during growth in mammalian blood. *Pathog. Dis.*, 2015, vol. 73, no. 8. doi: 10.1093/femspd/ftv061.
8. Carlson P. E. Jr., Carr K. A., Janes B. K., Anderson E. C., Hanna P. C. Transcriptional profiling of *Bacillus anthracis* Sterne (34F2) during iron starvation. *PLoS One*, 2009, vol. 4, no. 9, pp. e 6988. doi: 10.1371/journal.pone.0006988.
9. Chenau J., Fenaille F., Caro V., Haustant M., Diancourt L., Klee S. R., Junot C., Ezan E., Goossens P. L., Becher F. Identification and validation of specific markers of *Bacillus anthracis* spores by proteomics and genomics approaches. *Mol. Cell. Proteomics*, 2014, vol. 13, no. 3, pp. 716–732. doi: 10.1074/mcp.M113.032946.
10. Chitlaru T., Gat O., Gozlan Y., Ariel N., Shafferman A. Differential proteomic analysis of the *Bacillus anthracis* secretome: distinct plasmid and chromosome CO2-dependent cross talk mechanisms modulate extracellular proteolytic activities. *J. Bacteriol.*, 2006, vol. 188, no. 10, pp. 3551–3571. doi: 10.1128/JB.188.10.3551-3571.2006.
11. Chitlaru T., Gat O., Grosfeld H., Inbar I., Gozlan Y., Shafferman A. Identification of in vivo-expressed immunogenic proteins by serological proteome analysis of the *Bacillus anthracis* secretome. *Infect Immun.*, 2007, vol. 75, no. 6, pp. 2841–2852. doi: 10.1128/IAI.02029-06.
12. Daligault H. E., Davenport K. W., Minogue T. D., Bishop-Lilly K. A., Broomall S. M., Bruce D. C., Chain P. S., Coyne S. R., Frey K. G., Gibbons H. S., Jaissle J., Koroleva G. I., Ladner J. T., Lo C. C., Munk C., Palacios G. F., Redden C. L., Rosenzweig C. N., Scholz M. B., Johnson S. L. Twenty Whole-Genome *Bacillus* sp. Assemblies. *Genome Announc.*, 2014, vol. 2, no. 5, pp. e 00958–14. doi: 10.1128/genomeA.00958-14.
13. Dozmorov M., Wu W., Chakrabarty K., Booth J. L., Hurst R. E., Coggeshall K. M., Metcalf J. P. Gene expression profiling of human alveolar macrophages infected by *B. anthracis* spores demonstrates TNF-alpha and NF-kappaB are key components of the innate immune response to the pathogen. *BMC Infect. Dis.*, 2009, vol. 10, no. 9, pp. 152. doi: 10.1186/1471-2334-9-152.
14. Dyer M. D., Neff C., Dufford M., Rivera C. G., Shattuck D., Bassaganya-Riera J., Murali T. M., Sobral B. W. The human-bacterial pathogen protein interaction networks of *Bacillus anthracis*, *Francisella tularensis*, and *Yersinia pestis*. *PLoS One*, 2010, vol. 5, no. 8, pp. e 12089. doi: 10.1371/journal.pone.0012089.
15. Gohar M., Gilois N., Graveline R., Garreau C., Sanchis V., Lereclus D. A comparative study of *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus anthracis* extracellular proteomes. *Proteomics*, 2005, vol. 5, no. 14, pp. 3696–3711. doi: 10.1002/pmic.200401225.
16. Guidi-Rontani C. The alveolar macrophage: the Trojan horse of *Bacillus anthracis*. *Trends Microbiol.*, 2002, vol. 10, no. 9, pp. 405–409. doi: 10.1016/S0966-842X(02)02422-8.
17. Helgason E., Okstad O. A., Caugant D. A., Johansen H. A., Fouet A., Mock M., Hegna I., Kolstø A. B. *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis* – one species on the basis of genetic evidence. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2000, vol. 66, no. 6, pp. 2627–2630. doi: 10.1128/AEM.66.6.2627-2630.2000.
18. Hoheisel J. D. Microarray technology: beyond transcript profiling and genotype analysis. *Nat. Rev. Genet.*, 2006, vol. 7, no. 3, pp. 200–210. doi: 10.1038/nrg1809.
19. Humphrey S. J., James D. E., Mann M. Protein Phosphorylation: A Major Switch Mechanism for Metabolic Regulation. *Trends Endocrinol Metab.*, 2015, vol. 26, no. 12, pp. 676–687. doi: 10.1016/j.tem.2015.09.013.

20. Johnson S. L., Daligault H. E., Davenport K. W., Jaissle J., Frey K. G., Ladner J. T., Broomall S. M., Bishop-Lilly K. A., Bruce D. C., Gibbons H. S., Coyne S. R., Lo C. C., Meincke L., Munk A. C., Koroleva G. I., Rosenzweig C. N., Palacios G. F., Redden C. L., Minogue T. D., Chain P. S. Complete genome sequences for 35 biothreat assay-relevant bacillus species. *Genome Announc.*, 2015, vol. 3, no. 2, pp. e 00151–15. doi: 10.1128/genomeA.00151-15.
21. Keim P., Van Ert M. N., Pearson T., Vogler A. J., Huynh L. Y., Wagner D. M. Anthrax molecular epidemiology and forensics: using the appropriate marker for different evolutionary scales. *Infect. Genet. Evol.*, 2004, vol. 4, no. 3, pp. 205–213. doi: 10.1016/j.meegid.2004.02.005.
22. Keim P., Kalif A., Schupp J., Hill K., Travis S. E., Richmond K., Adair D. M., Hugh-Jones M., Kuske C. R., Jackson P. Molecular evolution and diversity in *Bacillus anthracis* as detected by amplified fragment length polymorphism markers. *J. Bacteriol.*, 1997, vol. 179, no. 3, pp. 818–824. doi: 10.1128/jb.179.3.818-824.1997.
23. Keim P., Price L. B., Klevytska A. M., Smith K. L., Schupp J. M., Okinaka R., Jackson P. J., Hugh-Jones M.E. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis*. *J. Bacteriol.*, 2000, vol. 182, no. 10, pp. 2928–2936. doi: 10.1128/JB.182.10.2928-2936.2000.
24. Lamonica J. M., Wagner M., Eschenbrenner M., Williams L. E., Miller T. L., Patra G., DelVecchio V. G. Comparative secretome analyses of three *Bacillus anthracis* strains with variant plasmid contents. *Infect. Immun.*, 2005, vol. 73, no. 6, pp. 3646–3658. doi: 10.1128/IAI.73.6.3646-3658.2005.
25. Langel F. D., Chiang C. Y., Lane D., Kenny T., Ojeda J. F., Zhong Y., Che J., Zhou Y., Ribot W., Kota K. P., Bavari S., Panchal R. G. Alveolar macrophages infected with Ames or Sterne strain of *Bacillus anthracis* elicit differential molecular expression patterns. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 2, pp. e 87201. doi: 10.1371/journal.pone.0087201.
26. Liu H., Bergman N. H., Thomason B., Shallom S., Hazen A., Crossno J., Rasko D. A., Ravel J., Read T. D., Peterson S. N., Yates J. 3rd, Hanna P. C. Formation and composition of the *Bacillus anthracis* endospore. *J. Bacteriol.*, 2004, vol. 186, no. 1, pp. 164–178. doi: 10.1128/JB.186.1.164-178.2004.
27. Manes N. P., Dong L., Zhou W., Du X., Reghu N., Kool A. C., Choi D., Bailey C. L., Petricoin E. F. 3rd, Liotta L. A., Popov S. G. Discovery of mouse spleen signaling responses to anthrax using label-free quantitative phosphoproteomics via mass spectrometry. *Mol. Cell Proteomics*, 2011, vol. 10, no. 3. doi: 10.1074/mcp.M110.000927.
28. Martin J., Zhu W., Passalacqua K. D., Bergman N., Borodovsky M. *Bacillus anthracis* genome organization in light of whole transcriptome sequencing. *BMC Bioinformatics*, 2010, vol. 11, no. S3, pp. S10. doi: 10.1186/1471-2105-11-S3-S10.
29. Nguyen C. T., Shetty V., Maresso A. W. Global metabolomic analysis of a mammalian host infected with *Bacillus anthracis*. *Infect Immun.*, 2015, vol. 83, no. 12, pp. 4811–4825. doi: 10.1128/IAI.00947-15.
30. Ogawa H., Fujikura D., Ohnuma M., Ohnishi N., Hang'ombe B. M., Mimuro H., Ezaki T., Mweene A. S., Higashi H. A novel multiplex PCR discriminates *Bacillus anthracis* and its genetically related strains from other *Bacillus cereus* group species. *PLoS One*, 2015, vol. 10, no. 3, pp. e 0122004. doi: 10.1371/journal.pone.0122004.
31. Passalacqua K. D., Varadarajan A., Byrd B., Bergman N. H. Comparative transcriptional profiling of *Bacillus cereus* sensu lato strains during growth in CO₂-bicarbonate and aerobic atmospheres. *PLoS One*, 2009, vol. 4, no. 3, pp. e 4904. doi: 10.1371/journal.pone.0004904.
32. Passalacqua K. D., Varadarajan A., Weist C., Ondov B. D., Byrd B., Read T. D., Bergman N. H. Strand-specific RNA-seq reveals ordered patterns of sense and antisense transcription in *Bacillus anthracis*. *PLoS One*, 2012, vol. 7, no. 8, pp. e 43350. doi: 10.1371/journal.pone.0043350.
33. Passalacqua K. D., Varadarajan A., Ondov B. D., Okou D. T., Zwick M. E., Bergman N.H. Structure and complexity of a bacterial transcriptome. *J. Bacteriol.*, 2009, vol. 191, no. 10, pp. 3203–3211. doi: 10.1128/JB.00122-09.
34. Passalacqua K. D., Bergman N. H., Lee J. Y., Sherman D. H., Hanna P. C. The global transcriptional responses of *Bacillus anthracis* Sterne (34F₂) and a Δ soxA1 mutant to paraquat reveal metal ion homeostasis imbalances during endogenous superoxide stress. *J. Bacteriol.*, 2007, vol. 189, no. 11, pp. 3996–4013. doi: 10.1128/JB.00185-07.
35. Pearson T., Busch J. D., Ravel J., Read T. D., Rhoton S. D., U'Ren J. M., Simonson T. S., Kachur S. M., Leadem R. R., Cardon M. L., Van Ert M. N., Huynh L. Y., Fraser C. M., Keim P. Phylogenetic discovery bias in *Bacillus anthracis* using single-nucleotide polymorphisms from whole-genome sequencing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, vol. 101, no. 37, pp. 13536–13541. doi: 10.1073/pnas.0403844101.
36. Ravel J., Jiang L., Stanley S. T., Wilson M. R., Decker R. S., Read T. D., Worsham P., Keim P. S., Salzberg S. L., Fraser-Liggett C. M., Rasko D. A. The complete genome sequence of *Bacillus anthracis* Ames “Ancestor”. *J. Bacteriol.*, 2009, vol. 191, no. 1, pp. 445–446. DOI: 10.1128/JB.01347-08.
37. Read T. D., Salzberg S. L., Pop M., Shumway M., Umayam L., Jiang L., Holtzapple E., Busch J. D., Smith K. L., Schupp J. M., Solomon D., Keim P., Fraser C. M. Comparative genome sequencing for discovery of novel polymorphisms in *Bacillus anthracis*. *Science*, 2002, vol. 296, no. 5575, pp. 2028–2033. doi: 10.1126/science.1071837.
38. Read T. D., Peterson S. N., Tourasse N., Baillie L. W., Paulsen I. T., Nelson K. E., Tettelin H., Fouts D. E., Eisen J. A., Gill S. R., Holtzapple E. K., Okstad O. A., Helgason E., Rilstone J., Wu M., Kolonay J. F., Beanan M. J., Dodson R. J., Brinkac L. M., Gwinn M., DeBoy R. T., Madpu R., Daugherty S. C., Durkin A. S., Haft D. H., Nelson W. C., Peterson J. D., Pop M., Khouri H. M., Radune D., Benton J. L., Mahamoud Y., Jiang L., Hance I. R., Weidman J. F., Berry K. J., Plaut R. D., Wolf A. M., Watkins K. L., Nierman W. C., Hazen A., Cline R., Redmond C., Thwaite J. E., White O., Salzberg S. L., Thomason B., Friedlander A. M., Koehler T. M., Hanna P. C., Kolstø A. B., Fraser C. M. The genome sequence of *Bacillus anthracis* Ames and comparison to closely related bacteria. *Nature*, 2003, vol. 423, no. 6935, pp. 81–86. doi: 10.1038/nature01586.

39. Riojas M. A., Kiss K., McKee M. L., Hazbón M. H. Multiplex PCR for species-level identification of *Bacillus anthracis* and detection of pXO1, pXO2, and related plasmids. *Health Secur.*, 2015, vol. 13, no. 2, pp. 122–129. doi: 10.1089/hs.2014.0056.
40. Seo G. M., Jung K. H., Kim S. J., Kim J. C., Yoon J. W., Oh K. K., Lee J. H., Chai Y. G. *Bacillus anthracis* spores influence ATP synthase activity in murine macrophages. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 2008, vol. 18, no. 4, pp. 778–783.
41. Seo G. M., Kim S. J., Kim J. C., Nam D. H., Yoon M. Y., Koo B. S., Chai Y. G. Targeting of *Bacillus anthracis* interaction factors for human macrophages using two-dimensional gel electrophoresis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2004, vol. 322, no. 3, pp. 854–859. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.07.190.
42. Spratlin J. L., Serkova N. J., Eckhardt SG. Clinical applications of metabolomics in oncology: a review. *Clin. Cancer Res.*, 2009, vol. 15, no. 2, pp. 431–440. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1059.
43. Van Ert M. N., Easterday W. R., Huynh L. Y., Okinaka R. T., Hugh-Jones M. E., Ravel J., Zanecki S. R., Pearson T., Simonson T. S., U'Ren J. M., Kachur S. M., Leadem-Dougherty R. R., Rhoton S. D., Zinser G., Farlow J., Coker P. R., Smith K. L., Wang B., Kenefic L. J., Fraser-Liggett C. M., Wagner D. M., Keim P. Global genetic population structure of *Bacillus anthracis*. *PLoS One*, 2007, vol. 2, no. 5, pp. e 461. doi: 10.1371/journal.pone.0000461.
44. Vitzthum F., Behrens F., Anderson N. L., Shaw J. H. Proteomics: from basic research to diagnostic application. A review of requirements & needs. *J. Proteome Res.*, 2005, vol. 4, no. 4, pp. 1086–1097. doi: 10.1021/pr050080b.
45. Wang Z., Gerstein M., Snyder M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nat. Rev. Genet.*, 2009, vol. 10, no. 1, pp. 57–63. doi: 10.1038/nrg2484.
46. Wunschel D. S., Hutchison J. R., Deatherage Kaiser B. L., Merkley E. D., Hess B. M., Lin A., Warner M. G. Proteomic signatures differentiating *Bacillus anthracis* Sterne sporulation on soil relative to laboratory media. *Analyst.*, 2017, vol. 143, no. 1, pp. 123–132. doi: 10.1039/c7an01412k.
47. Zhong W., Shou Y., Yoshida T. M., Marrone B. L. Differentiation of *Bacillus anthracis*, *B. cereus*, and *B. thuringiensis* by using pulsed-field gel electrophoresis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2007, vol. 73, no. 10, pp. 3446–3449. doi: 10.1128/AEM.02478-06 1.