

CRISPR/Cas-белки для выявления генов антибиотикоустойчивости у патогенных микроорганизмов

М.А.Тюменцева, А.И.Тюменцев, А.Н.Преловская, В.Г.Акимкин

ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация

Для решения эпидемиологических задач по расшифровке вспышек инфекционных болезней, выявления и идентификации возбудителя, а также детекции специфических бактериальных генов необходимы разработка и внедрение в практику работы надзорных и мониторинговых служб современных технологий молекулярной эпидемиологии. Одной из таких технологий является использование элементов генетического редактирования системы CRISPR/Cas. В настоящей работе разработаны направляющие РНК, которые могут быть использованы в системе CRISPR/Cas12 в составе рибонуклеопротеиновых комплексов для выявления единичных копий генов антибиотикоустойчивости патогенных микроорганизмов.

Ключевые слова: CRISPR/Cas-нуклеаза, направляющая РНК, рибонуклеопротеиновый комплекс CRISPR/Cas, предварительная амплификация, ген антибиотикоустойчивости

Для цитирования: Тюменцева М.А., Тюменцев А.И., Преловская А.Н., Акимкин В.Г. CRISPR/Cas-белки для выявления генов антибиотикоустойчивости у патогенных микроорганизмов. Бактериология. 2023; 8(4): 47–50. DOI: 10.20953/2500-1027-2023-4-47-50

CRISPR/Cas proteins for detecting antibiotic resistance genes in pathogenic microorganisms

M.A.Tyumentseva, A.I.Tyumentsev, A.N.Prelovskaya, V.G.Akimkin

Central Research Institute of Epidemiology of Rosпотребнадзор, Moscow, Russian Federation

To solve epidemiological problems of deciphering outbreaks of infectious diseases, identifying pathogens, as well as detecting specific bacterial genes, it is necessary to develop and implement modern technologies of molecular epidemiology into the practice of surveillance and monitoring services. One of these technologies is the use of genetic editing elements of the CRISPR/Cas system. In this work, guide RNAs have been developed that can be used in the CRISPR/Cas12 system as part of ribonucleoprotein complexes to identify single copies of antibiotic resistance genes in pathogenic microorganisms.

Key words: CRISPR/Cas nuclease, guide RNA, CRISPR/Cas ribonucleoprotein complex, pre-amplification, antibiotic resistance gene

For citation: Tyumentseva M.A., Tyumentsev A.I., Prelovskaya A.N., Akimkin V.G. CRISPR/Cas proteins for detecting antibiotic resistance genes in pathogenic microorganisms. Bacteriology. 2023; 8(4): 47–50. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2023-4-47-50

В 2018 г. было показано, что один из ферментов CRISPR-системы – Cas12 – после распознавания своей целевой ДНК-мишени начинает неспецифически гидролизовать одноцепочечную ДНК. Такое свойство Cas12 можно использовать в качестве индикатора присутствия определенной мишени, например генома вируса или бактерии. Исследователи использовали это открытие для создания технологической платформы обнаружения нуклеиновых кислот DETECTR (DNA Endonuclease Targeted CRISPR Trans Reporter). Впервые DETECTR была использована для выявления и генотипирования вируса папилломы человека (HPV). Предложенная платформа объединяет нуклеазу

Cas12a, ее направляющую РНК, специфичную к нуклеиновой кислоте HPV, и флуоресцентную репортерную молекулу. Технология DETECTR используется для обнаружения целевой ДНК-мишени после предварительной амплификации [1]. Не менее важным приложением системы CRISPR/Cas является идентификация бактериальных патогенов и детекция специфических бактериальных генов. Так, например, с помощью платформы SHERLOCK (Specific High-Sensitivity Enzymatic Reporter Unlocking) удалось корректно генотипировать ряд штаммов *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa* при низкой перекрестной реактивности. Кроме того, платформа SHERLOCK была использована для диф-

Для корреспонденции:

Тюменцева Марина Алексеевна, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией геномного редактирования Отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора

Адрес: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3А
Телефон: (495) 974-9646

Статья поступила 30.11.2023, принята к печати 25.12.2023

For correspondence:

Marina A. Tyumentseva, PhD in Biological Sciences, Head of the Laboratory of Genome Editing, Department of Molecular Diagnostics and Epidemiology, Central Research Institute of Epidemiology of Rosпотребнадзор

Address: 3A Novogireevskaya str., Moscow, 111123, Russian Federation
Phone: (495) 974-9646

The article was received 30.11.2023, accepted for publication 25.12.2023

ференциации клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae* с двумя различными генами антибиотикоустойчивости, что открывает значительные перспективы создания мультиплексных систем для одновременной идентификации бактериальных патогенов и выявления у них генов антибиотикоустойчивости [2].

Антибиотикоустойчивые патогенные микроорганизмы стали проблемой современного здравоохранения, так как устойчивость к антибиотикам приводит к увеличению медицинских расходов, длительному пребыванию в больнице и увеличению смертности. В связи с этим крайне актуальной является задача разработки новых эффективных методик выявления генов антибиотикоустойчивости у бактериальных патогенов, основанных на генетических технологиях, таких как CRISPR/Cas.

Материалы и методы

В работе использовались методы амплификации нуклеиновых кислот, в т.ч. с детекцией флуоресценции в режиме реального времени.

Подбор последовательностей-мишеней в генах антибиотикоустойчивости для создания направляющих РНК проводили с использованием современных алгоритмов *in silico* анализа нуклеотидных последовательностей и программ, находящихся в открытом доступе, включая Benchling (<https://www.benchling.com/molecular-biology/>).

В качестве модельных матриц генов антибиотикоустойчивости использовали плазмидные ДНК pGEM-T, содержащие в своем составе фрагменты соответствующих генов антибиотикоустойчивости.

Предварительную амплификацию участков, соответствующих генам антибиотикоустойчивости, проводили с использованием ПЦР-смеси-2 blue (ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Россия) и специфических олигонуклеотидов [3, 4]. В ходе пробоподготовки для предварительной амплификации проводили титрование модельных матриц путем приготовления серийных разведений. Температурный профиль амплификации для получения ПЦР-продуктов, кодирующих фрагменты генов антибиотикоустойчивости: начальная денатурация 95°C в течение 3 мин; 40 циклов амплификации 95°C – 15 с, 55°C – 45 с, 72°C – 30 с; финальная элонгация: 72°C в течение 5 мин. Эффективность предварительной амплификации полученных фрагментов генов антибиотикоустойчивости оценивали при помощи электрофореза в агарозном геле. Амплифицированный материал без предварительной очистки использовали для экспериментов по выявлению генов антибиотикоустойчивости с помощью рибонуклеопротеиновых комплексов LbCpf1 из *Lachnospiraceae*, содержащих направляющие РНК sgRNA [3, 4].

Синтез направляющих РНК для обнаружения генов антибиотикоустойчивости и создание готовых рибонуклеопротеиновых комплексов, содержащих белок семейства CRISPR/Cas LbCpf1 из *Lachnospiraceae* и направляющую РНК, проводили как описано ранее [5].

Для обнаружения генов антибиотикоустойчивости готовили реакционную смесь, содержащую 250 нг рибонуклеопротеинового комплекса (LbCpf1 из *Lachnospiraceae* и направляющая РНК), 20 pmol флуоресцентного зонда 6FAM-TTATT-

BHQ1 и предварительно амплифицированный фрагмент соответствующего гена антибиотикоустойчивости. Реакционные смеси, содержащие все необходимые компоненты, помещали в амплификатор «ДТПрайм 5» («ДНК-Технология», Россия) и задавали следующие параметры реакции: 60 циклов; 37°C – 35 с, 37°C – 25 с со съемкой флуоресценции.

Результаты исследования и их обсуждение

Для каждого гена (*bla*_{VIM-2} *P. aeruginosa*, *mecA* *Staphylococcus aureus* и *bla*_{TEM-1B} *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* и др.) был составлен перечень участков с теоретически рассчитанной вероятностью их расщепления [6]. Из составленного перечня были выбраны участки, характеризующиеся наибольшей вероятностью расщепления нуклеазой LbCpf1 из *Lachnospiraceae*, и сконструированы соответствующие направляющие РНК. Среднее значение рассчитанной вероятности расщепления последовательностей-мишеней с помощью разработанных РНК составило 96,52%.

В ходе проделанной работы были разработаны направляющие РНК, которые могут быть использованы в системе CRISPR-Cas12 в составе рибонуклеопротеиновых комплексов для выявления генов антибиотикоустойчивости патогенных микроорганизмов:

- 5 шт. для выявления гена антибиотикоустойчивости *bla*_{VIM-2} *P. aeruginosa*;
- 2 шт. для выявления гена антибиотикоустойчивости *mecA* *S. aureus*;
- 6 шт. для выявления гена антибиотикоустойчивости *bla*_{TEM-1B} *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. enterica*, *S. flexneri* и др.

В качестве модельных матриц использовали плазмидную ДНК pGEM-T, содержащую клонированные фрагменты генов антибиотикоустойчивости:

- pGEM-T-*bla*_{VIM-2}, содержащую в своем составе фрагмент гена антибиотикоустойчивости *bla*_{VIM-2} *P. aeruginosa* размером 411 п.о.;
- pGEM-T-*mecA*-1280, содержащую в своем составе фрагмент гена антибиотикоустойчивости *mecA* *S. aureus* размером 169 п.о.;
- pGEM-T-*mecA*-1412, содержащую в своем составе фрагмент гена антибиотикоустойчивости *mecA* *S. aureus* размером 314 п.о.

• pGEM-T-*bla*_{TEM-1B}, содержащую в своем составе фрагмент гена антибиотикоустойчивости *bla*_{TEM-1B} *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. enterica*, *S. flexneri* и др. размером 618 п.о.

Предварительную амплификацию участка, соответствующего фрагменту гена антибиотикоустойчивости, проводили с использованием специфических олигонуклеотидов. Для разработки систем CRISPR/Cas с целью выявления генов антибиотикоустойчивости были использованы 1–2 пары специфических олигонуклеотидов для проведения пре-амплификации [3, 4]. Отметим, что эффективность работы систем CRISPR/Cas для выявления генов антибиотикоустойчивости не зависела от длины анализируемых фрагментов.

Для обнаружения генов антибиотикоустойчивости с помощью рибонуклеопротеиновых комплексов CRISPR/Cas был проведен ряд экспериментов и показано, что комплексы, сформированные на основе LbCpf1 из *Lachnospiraceae* и со-

ответствующих направляющих РНК, обладают способностью выявлять единичные копии генов антибиотикоустойчивости:

- 1,5 копий гена антибиотикоустойчивости *bla*_{VIM-2} *P. aeruginosa*, внесенных в реакцию предварительной амплификации;
- 1,7 копий гена антибиотикоустойчивости *mecA* *S. aureus*, внесенных в реакцию предварительной амплификации;
- 2,56 копий гена антибиотикоустойчивости *bla*_{TEM-1B} *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. enterica*, *S. flexneri*, внесенных в реакцию предварительной амплификации.

Также в ходе работ была оценена эффективность выявления единичных копий генов антибиотикоустойчивости, содержащихся в составе модельных матриц, с использованием различных направляющих РНК. Было показано, что рибонуклеопротеиновые комплексы CRISPR/Cas, сформированные на основе LbCpf1 из *Lachnospiraceae* и направляющих РНК, выявляют единичные копии генов антибиотикоустойчивости с различной эффективностью, и их можно расположить в следующем порядке по уменьшению активности:

sgRNA *bla*_{VIM-2} №207 > sgRNA *bla*_{VIM-2} №93 > sgRNA *bla*_{VIM-2} №366 > sgRNA *bla*_{VIM-2} №285 > sgRNA *bla*_{VIM-2} №95;
crRNA *mecA* №1280 ≈ crRNA *mecA* №1412;
crRNA *bla*_{TEM-1B} №536 ≥ crRNA *bla*_{TEM-1B} №410 > crRNA *bla*_{TEM-1B} №56 ≥ crRNA *bla*_{TEM-1B} №166 > crRNA *bla*_{TEM-1B} №329 ≥ crRNA *bla*_{TEM-1B} №479.

Разработанные направляющие РНК были протестированы на ограниченных панелях клинических образцов:

10 шт., содержащих *P. aeruginosa*, несущую ген антибиотикоустойчивости *bla*_{VIM-2} (ранее подтверждено микробиологическими методами и методом секвенирования следующего поколения);

16 шт., содержащих *S. aureus*, несущую ген антибиотикоустойчивости *mecA* (ранее подтверждено методом секвенирования следующего поколения);

10 шт. (6 шт. *E. coli*, 4 шт. *K. pneumoniae*), содержащих ген антибиотикоустойчивости *bla*_{TEM-1B} (ранее подтверждено методом секвенирования следующего поколения).

В ходе проведенного анализа было показано, что рибонуклеопротеиновые комплексы CRISPR/Cas обладают способностью выявлять гены антибиотикоустойчивости в препаратах ДНК, выделенных из клинических образцов. При этом значение сигнала превышало значение «шума» (неспецифической флуоресценции контрольного образца, не содержащего мишени) в 5 раз в среднем на:

13–14-м цикле (13–14 мин) анализа образцов, содержащих *P. aeruginosa*, несущую ген антибиотикоустойчивости *bla*_{VIM-2};

28–29-м цикле (28–29 мин) анализа образцов, содержащих *S. aureus*, несущую ген антибиотикоустойчивости *mecA*;

19–20-м цикле (19–20 мин) анализа образцов, содержащих ген антибиотикоустойчивости *bla*_{TEM-1B}.

Отметим также, что эффективность выявления генов антибиотикоустойчивости, содержащихся в составе препаратов ДНК, выделенных из клинических образцов, с использованием различных направляющих РНК и LbCpf1 из *Lachnospiraceae* различалась, как и при работе с модельными матрицами.

В литературе имеются упоминания о разработке и получении направляющих РНК для выявления генов антибиотикоустойчивости у бактериальных патогенов с помощью технологии CRISPR/Cas [7, 8]. Например, V.Müller et al. описывают

анализ, основанный на оптическом картировании ДНК отдельных плазмид, несущих гены антибиотикоустойчивости, бактериальных изолятов в наножидкостных каналах, который предоставляет подробную информацию об этих плаزمиде, в т.ч. о наличии/отсутствии в них генов антибиотикоустойчивости. Описанный анализ позволяет идентифицировать гены антибиотикоустойчивости с использованием CRISPR/Cas9 и направляющих РНК, специфических к генам антибиотикоустойчивости *bla*_{CTX-M} группы 1, *bla*_{CTX-M} группы 9, *bla*_{NDM} и *bla*_{KPC}. В ходе анализа рибонуклеопротеиновый комплекс CRISPR/Cas9 линейризует кольцевые плазмиды в районе гена антибиотикоустойчивости, а полученные линейные молекулы ДНК идентифицируются с помощью оптического картирования [7]. Недостатками описанного анализа является необходимость использования дорогостоящего высокотехнологичного оборудования (специализированные нанофлюидные биочипы, инвертированный флуоресцентный микроскоп с увеличением не менее 100×), а также необходимость проведения сложного анализа полученных данных с применением специализированного программного обеспечения. Кроме того, только в перспективе предложенный анализ сможет быть применен к образцам с низкой концентрацией ДНК, так как предложенный способ описывает проведение анализа с образцами, содержащими около 10⁸ копий плазмидных ДНК, несущих гены антибиотикоустойчивости (60 нг ДНК, плазмидной ДНК размером 67 т.п.н. – 220 т.п.н.). В то же время описанные в настоящей работе направляющие РНК позволяют ультрачувствительно выявлять единичные копии генов антибиотикоустойчивости, в т.ч. в составе препаратов ДНК, выделенных из клинических образцов, после предварительной амплификации в составе рибонуклеопротеиновых комплексов CRISPR/Cas12.

Заключение

В ходе проделанной работы впервые в России разработаны направляющие РНК, которые могут быть использованы в системе CRISPR/Cas12 в составе рибонуклеопротеиновых комплексов для выявления генов антибиотикоустойчивости патогенных микроорганизмов. Полученные направляющие РНК системы CRISPR/Cas12 способны *in vitro* выявлять целевые последовательности в составе модельных матриц и нуклеиновых кислот, выделенных из клинических образцов.

После проведения дополнительных исследований, оптимизации и апробации описанные направляющие РНК могут быть использованы для разработки высокочувствительных и высокотехнологичных прототипов диагностических систем нового поколения на основе генетических технологий (направленное редактирование генома) для совершенствования методов диагностики инфекционных заболеваний, в т.ч. для разработки методов выявления антибиотикоустойчивых микроорганизмов.

Подобные разработки направлены на ускорение развития генетических технологий, создают научно-технический задел для реализации широко спектра научных и прикладных проектов, связанных с внедрением в сферу здравоохранения новых медицинских изделий (диагностических систем), средств индикации и идентификации патогенных биологических агентов. Такие диагностические системы

могут обладать более высокой чувствительностью по сравнению с ПЦР. Кроме того, их применение возможно как у постели больного, так и в полевых условиях без использования специализированного высокотехнологичного оборудования. Их отличает высокая скорость, простота и потенциально сниженная по сравнению с ПЦР стоимость анализа.

Информация о финансировании

Разработка направляющих РНК для выявления гена антибиотикоустойчивости *bla_{VIM-2}* *P. aeruginosa* выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках гранта в форме субсидии на создание и развитие «Центра геномных исследований мирового уровня по обеспечению биологической безопасности и технологической независимости в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий», соглашение No 075-15-2019-1666.

Разработка направляющих РНК для выявления гена антибиотикоустойчивости *mecA* *S. aureus* и гена антибиотикоустойчивости *bla_{VIM-2}* *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. enterica*, *S. flexneri* выполнена в рамках Отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора на период 2021–2025 гг. (Рег. № НИОКТР АААА-А21-121011890139-0).

Financial support

The development of guide RNAs for identifying the antibiotic resistance gene *bla_{VIM-2}* of *P. aeruginosa* was carried out with financial support from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of a grant in the form of a subsidy for the creation and development of the «World-Class Center for Genomic Research to Ensure Biological Safety and Technological Independence within the Federal Scientific-technical program for the development of genetic technologies», agreement No 075-15-2019-1666.

The development of guide RNAs for identifying the antibiotic resistance gene *mecA* of *S. aureus* and the antibiotic resistance gene *bla_{TEM-1B}* of *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. enterica*, *S. flexneri* was carried out within the framework of the Industry Research Program of Rosпотребнадзор for the period 2021–2025 gg. (Reg. No NIOKTR АААА-А21-121011890139-0).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература

1. Chen JS, Ma E, Harrington LB, Da Costa M, Tian X, Palefsky JM, et al. CRISPR-Cas12a target binding unleashes indiscriminate single-stranded DNase activity. *Science*. 2018 Apr 27;360(6387):436–439. DOI: 10.1126/science.aar6245
2. Gootenberg JS, Abudayyeh OO, Lee JW, Essletzbichler P, Dy AJ, Joung J, et al. Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2. *Science*. 2017 Apr 28;356(6336):438–442. DOI: 10.1126/science.aam9321
3. Тюменцев АИ, Тюменцева МА, Акимкин ВГ. Система CRISPR-Cas для выявления гена антибиотикоустойчивости *bla_{VIM-2}* (металло-бета-лактамаза класс В VIM-2) *P. aeruginosa* в ультранизких концентрациях. Патент РФ №2743861. 2021. Бюл. №7.

4. Тюменцев АИ, Тюменцева МА, Преловская АН, Акимкин ВГ. Система CRISPR-Cas12 для выявления гена антибиотикоустойчивости *mecA* *Staphylococcus aureus* в ультранизких концентрациях. Патент РФ №2782314. 2022. Бюл. №30.
5. Акимкин ВГ, Тюменцев АИ, Тюменцева МА. Система CRISPR-Cas для детекции провирусной ДНК вируса иммунодефицита человека, интегрированной в геном человека, в ультранизких концентрациях. Патент РФ №2720768. 2019. Бюл. №14.
6. Hsu PD, Scott DA, Weinstein JA, Ran FA, Konermann S, Agarwala V, et al. DNA targeting specificity of RNA-guided Cas9 nucleases. *Nat Biotechnol*. 2013 Sep;31(9):827–32. DOI: 10.1038/nbt.2647
7. Müller V, Rajer F, Frykholm K, Nyberg LK, Quaderi S, Fritzsche J, et al. Direct identification of antibiotic resistance genes on single plasmid molecules using CRISPR/Cas9 in combination with optical DNA mapping. *Sci Rep*. 2016 Dec 1;6:37938. DOI: 10.1038/srep37938
8. Quan J, Langelier C, Kuchta A, Batson J, Teyssier N, Lyden A, et al. FLASH: a next-generation CRISPR diagnostic for multiplexed detection of antimicrobial resistance sequences. *Nucleic Acids Res*. 2019 Aug 22;47(14):e83. DOI: 10.1093/nar/gkz418

References

1. Chen JS, Ma E, Harrington LB, Da Costa M, Tian X, Palefsky JM, et al. CRISPR-Cas12a target binding unleashes indiscriminate single-stranded DNase activity. *Science*. 2018 Apr 27;360(6387):436–439. DOI: 10.1126/science.aar6245
2. Gootenberg JS, Abudayyeh OO, Lee JW, Essletzbichler P, Dy AJ, Joung J, et al. Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2. *Science*. 2017 Apr 28;356(6336):438–442. DOI: 10.1126/science.aam9321
3. Tyumentsev AI, Tyumentseva MA, Akimkin VG. CRISPR-Cas system for detecting the antibiotic resistance gene *bla_{VIM-2}* (metallo-beta-lactamase class B VIM-2) of *P. aeruginosa* at ultra-low concentrations. Patent RU No 2743861. 2021. Bulletin No 7. (In Russian).
4. Tyumentsev AI, Tyumentseva MA, Prelovskaya AN, Akimkin VG. CRISPR-Cas12 system for detecting the antibiotic resistance gene *mecA* of *Staphylococcus aureus* at ultra-low concentrations. Patent RU No 2782314. 2022. Bulletin No 30. (In Russian).
5. Akimkin VG, Tyumentsev AI, Tyumentseva MA. CRISPR-Cas system for detection of human immunodeficiency virus proviral DNA integrated into the human genome in ultra-low concentrations. Patent RU No 2720768. 2019. Bulletin No 14. (In Russian).
6. Hsu PD, Scott DA, Weinstein JA, Ran FA, Konermann S, Agarwala V, et al. DNA targeting specificity of RNA-guided Cas9 nucleases. *Nat Biotechnol*. 2013 Sep;31(9):827–32. DOI: 10.1038/nbt.2647
7. Müller V, Rajer F, Frykholm K, Nyberg LK, Quaderi S, Fritzsche J, et al. Direct identification of antibiotic resistance genes on single plasmid molecules using CRISPR/Cas9 in combination with optical DNA mapping. *Sci Rep*. 2016 Dec 1;6:37938. DOI: 10.1038/srep37938
8. Quan J, Langelier C, Kuchta A, Batson J, Teyssier N, Lyden A, et al. FLASH: a next-generation CRISPR diagnostic for multiplexed detection of antimicrobial resistance sequences. *Nucleic Acids Res*. 2019 Aug 22;47(14):e83. DOI: 10.1093/nar/gkz418

Информация о соавторах:

Тюменцев Александр Игоревич, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией экспериментальной фармакологии отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора

Преловская Анна Николаевна, младший научный сотрудник лаборатории геномного редактирования отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора

Акимкин Василий Геннадьевич, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора

Information about co-authors:

Alexander I. Tyumentsev, PhD in Biological Sciences, Head of the Laboratory of Experimental Pharmacology, Department of Molecular Diagnostics and Epidemiology, Central Research Institute of Epidemiology of Rosпотребнадзор
Anna N. Prelovskaya, Junior Researcher, Laboratory of Genome Editing, Department of Molecular Diagnostics and Epidemiology, Central Research Institute of Epidemiology of Rosпотребнадзор

Vasily G. Akimkin, Academician of the Russian Academy of Sciences, MD, PhD, DSc, professor, Director of the Central Research Institute of Epidemiology of Rosпотребнадзор