

DOI: 10.21055/0370-1069-2025-3-18-27

УДК 579.25+579.61

Е.Ю. Агафонова

## Бактериальный пангеном

ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

В обзоре представлен анализ данных литературы о пангеномных исследованиях с начала 2000-х гг. В молекулярной биологии и генетике пангеном – совокупность всей генетической информации рассматриваемой группы организмов (вида или монофилетической группы организмов). Пангеном структурно разделяют на основной геном, который содержит гены, имеющиеся во всех исследуемых генетических последовательностях, дополнительный геном – это гены, общие для большинства геномов (10–95 %), и облачный геном – гены, присутствующие не у всех представителей вида, или гены, присутствующие только в одном из геномов или встречающиеся менее чем в 10 % геномов. Некоторые авторы также называют облачный геном «вспомогательным геномом», содержащим «необязательные» гены или штаммоспецифичные гены. Также одним из важных показателей генетического разнообразия внутри таксона является понятие открытого и закрытого пангеномов, что позволяет судить о внутривидовом разнообразии, связанном с различными генетическими событиями. Таким образом, пангеномика – это быстро развивающееся направление на стыке микробиологии, биоинформатики, эпидемиологии, которое открывает новые горизонты в исследованиях. В связи с усовершенствованием методов секвенирования концепция одного «эталонного» или «референсного» генома может быть несостоятельной и достаточно ограниченной, поэтому для полного понимания картины и восполнения данных возможно использование концепции пангеномов.

**Ключевые слова:** пангеном, мультиомиксные исследования, обратная вакцинология, систематика бактерий, эпидемиология.

Корреспондирующий автор: Агафонова Елена Юрьевна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Агафонова Е.Ю. Бактериальный пангеном. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2025; 3:18–27. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-3-18-27  
Поступила 17.03.2025. Отправлена на доработку 19.05.2025. Принята к публикации 16.06.2025.

E.Yu. Agafonova

## Bacterial Pangenome

Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation

**Abstract.** This literature review provides an aggregate data on pan-genome studies since the early 2000s. In molecular biology and genetics, pan-genome is the totality of all genetic information on a group of organisms (species or monophyletic group of organisms) under consideration. Pan-genome is structurally divided into the “core genome”, which contains the genes present in all studied genetic sequences, the “accessory genome”, which is genes common to most genomes (10–95 %), and the “cloud genome”, genes that are not present in all representatives of the species, or genes that are present in only one of the genomes or found in less than 10 % of genomes. Some authors also call the cloud genome the “accessory genome”, which contains “unnecessary” genes or strain-specific genes. Also, one of the important indicators of genetic diversity within a taxon is the concept of open and closed pangenomes, which allows us to judge intraspecific diversity, which is associated with various genetic events. Thus, pangenomics is a rapidly developing area at the intersection of microbiology, bioinformatics, epidemiology, which opens up new horizons in research. Due to the improvement of sequencing methods, the concept of one “standard” or “reference” genome may be inconsistent and quite limited, therefore, for a complete understanding of the picture and replenishment of data, it is possible to use the concept of pangenomes.

**Key words:** pangenome, multi-omics research, reverse vaccinology, bacterial taxonomy, epidemiology.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflict of interest.

**Funding:** The authors declare no additional financial support for this study.

Corresponding author: Elena Yu. Agafonova, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Agafonova E.Yu. Bacterial Pangenome. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2025; 3:18–27. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2025-3-18-27

Received 17.03.2025. Revised 19.05.2025. Accepted 16.06.2025.

Agafonova E.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9988-6312>

С каждым годом все больше исследований проводится на стыке разных наук, в результате чего появляются новые направления. Огромный интерес

вызывают омиксные технологии, работающие с массивами сложноорганизованных молекул и данных, на стыке нескольких наук: геномики, протеомики,

транскриптомики, метаболомики, эпигеномики, микробиомики и т.д.

Омиксные исследования представляют собой совокупность высокотехнологичных подходов, направленных на изучение биологических систем на молекулярном уровне. Омиксные и мультиомиксные технологии являются современной парадигмой экспериментальной работы, основанной на получении большого количества данных для последующего изучения и поиска взаимосвязей. Все это напрямую связано с такими технологиями, как секвенирование, масс-спектрометрия, цитометрия, а также с различным программным обеспечением, базами данных и искусственным интеллектом [1, 2]. Непрерывное развитие и совершенствование методов секвенирования дает возможность исследовать не отдельные геномы особей, а массивы геномов, *пангеномы* вида. Такой массив генетических данных позволяет глубже изучать эволюцию отдельных видов, влияние факторов внешней среды на адаптацию, разрабатывать новые вакцины и лекарственные препараты.

На заре геномных исследований научное сообщество полагало, что одного генома вполне достаточно для проведения широкого круга генетических исследований, включая изучение вариаций внутри и между видами. Со временем затраты на секвенирование снизились, анализ выходных данных стал происходить быстрее и точнее, и уже секвенированы тысячи новых геномов. В результате одного-единственного, референсного генома стало недостаточно. Поскольку количество и масштаб исследований резко возросли, пришло осознание, что использование одной секвенированной последовательности может накладывать многочисленные ограничения. Например, по некоторым оценкам, до 10 % от общего размера генома человека могут отсутствовать в эталонных геномах [3]. Новые подходы должны быть способны не только определять и фиксировать вариации в больших коллекциях геномов, но и обеспечивать эффективный поиск нуклеотидных последовательностей.

В связи с этим **цель** данного обзора – оценить актуальность, перспективность вопросов, связанных с пангеномными исследованиями микроорганизмов, в отечественной и зарубежной литературе.

Термин «**пангеном**» («пан» происходит от греческого слова *παν* – «целое», «всё», «геном» – совокупность всего генетического материала организма) предложен Н. Tettelin et al. в 2005 г. как концепция того, что генетическое разнообразие биологического вида, то есть пул генетического материала, присутствующего в организмах вида, всегда превосходит каждый из отдельных геномов и в некоторых случаях может быть «неограниченным» [4, 5]. Изначально пангеномы были собраны для бактерий и архей, а отнесенные недавно анонсированы и представлены пангеномы эукариотических организмов (растений, грибов, животных, человека) [6–9].

Идея, что бактериальные геномы в пределах одного вида могут сильно различаться по содержанию ДНК, не нова. Экспериментальные данные,

указывающие на существование вариаций, набора генов внутри видов бактерий, были получены в ходе исследований бактерий рода *Aeromonas*, где наблюдалось несоответствие между почти идентичной последовательностью 16S рРНК и низкими уровнями ДНК-ДНК гибридизации, что позволило авторам исследования предположить существование геномных регионов, которые не являются общими для близкородственных штаммов [10]. Также в 1980–1990-х гг. на примере коллекции *Escherichia coli* ECOR методом PFGE (электрофорез в пульсирующем поле) было показано, что разные представители коллекции имеют размеры генома в диапазоне от 4,5 до 5,5 Мпн [11]. Отличия наблюдались не только в размере генома, но и в составе генов, присутствующих в разных штаммах *E. coli*. Оказалось, что некоторые штаммы не являлись родственными, то есть между ними не было гомологичных генов. И только с наступлением и развитием геномной эры это явление удалось правильно оценить [12].

К началу 2000-х гг. уже были секвенированы и расшифрованы (полностью или частично) геномы *Haemophilus influenzae* (1995 г.) [13], *Saccharomyces cerevisiae* (1996 г.) [14] и *E. coli* (1997 г.) [15], а также вышла знаковая публикация генома человека в 2001 г. [16]. Эти, а также многие другие опубликованные и анонсированные последовательности стали так называемыми «**эталонными**» или «**референсными**» геномами, которые легли в основу многих исследований в геномике, а также изучения генетической изменчивости путем повторного секвенирования других особей того же вида. Число секвенированных геномов со временем только увеличивается, имеет место переосмысление идеи референсного генома. Такая референсная последовательность может иметь различные формы:

- геном одного выбранного индивидуума;
- консенсус, полученный от всей популяции;
- «функциональный геном» (без мутаций, вызывающих нарушение работы генов);
- максимальный геном, охватывающий все имеющиеся последовательности.

Каждая альтернатива имеет смысл в зависимости от контекста исследований. Однако многие из первых секвенированных последовательностей не являлись ни одной из вышеперечисленных. Чтобы в полной мере использовать генетические данные, хороший референсный геном должен обладать возможностями, выходящими за рамки перечисленных альтернатив. Поэтому со временем происходит смена парадигмы, сосредоточенной на одном референсном геноме, на использование «пангеномов» [17].

В августе 2000 г. группа ученых из Италии и США начала работу по созданию вакцины против стрептококка группы В (GBS, *Streptococcus agalactiae*) на основе подхода «обратной вакцинологии» [4, 18, 19]. Идея заключалась в том, чтобы использовать информацию о последовательности генома *S. agalactiae* для прогнозирования белков, которые могут оказаться на поверхности микроорга-

низма, и применения их в экспериментальной работе для оценки иммуногенности, качества антигена, продукции антител для последующей разработки вакцины против стрептококка группы В. При сравнении нуклеотидных последовательностей восьми штаммов *S. agalactiae* были обнаружены значительные различия между их геномами. Основным набор генов каждого из восьми исследованных геномов составлял лишь около 80 % потенциала кодирования генов отдельного генома. Среди этих восьми геномов не было ни одной почти идентичной пары. Каждый геном вносил значительное количество новых, штаммоспецифичных генов, отсутствующих в других секвенированных геномах. В среднем геном каждого нового штамма отличался от остальных на 33 гена. Данные исследования предоставили первые доказательства того, что структура генома (содержание генов, качественный и количественный состав) варьируется среди близкородственных изолятов стрептококка, ставя под сомнение общепринятое представление о том, что генома одного изолята данного вида вполне достаточно. Содержание генов в одном штамме меньше, чем в полном наборе различных генов всех штаммов. Встал важный вопрос, который и лег в основу концепции пангенома: «Сколько геномов изолятов вида нужно секвенировать, чтобы быть уверенными, что мы идентифицировали все гены, которые могут содержаться в целом геноме?» В итоге пришли к заключению, что экстраполяция верна и новые гены штаммов GBS будут обнаружены даже после секвенирования очень большого количества геномов. Возникла необходимость создания нового направления, которое бы учитывало те гены, которые присущи виду, но отсутствуют в геномах некоторых штаммов этого же вида. После долгих обсуждений команда исследователей согласилась с концепцией пангенома и описала его с помощью трех дифференцированных компонентов (частей): основного (core genome), дополнительного (shell genome) и периферического (cloud genome) геномов [18–21].

**1. Основной (универсальный, ядро, core) геном** – гены, присутствующие во всех проанализированных геномах. Это так называемые гены «домашнего хозяйства» (house keeping gene) и гены, связанные с первичным метаболизмом, патогенностью, адаптацией. Также основной геном может содержать

некоторые гены, которые отличают данный вид от других видов рода. Чтобы избежать исключения некоторых областей из-за ошибок секвенирования, сборки и аннотаций, рассматривают вариант «мягкого» основного генома (softcore), включающего гены, которые присутствуют у 92–95 % штаммов [22, 23].

**2. Дополнительный (shell) геном** – состоит из генов, общих для большинства геномов (встречаемость 10–95 %). Это собственно и определяет различия между штаммами, серотипами, биоварами [4, 24].

**3. Периферический (cloud) геном** – гены, присутствующие не у всех представителей вида, или гены, присутствующие только в одном из геномов или встречающиеся менее чем в 10 % геномов. Такие гены могут отвечать за адаптацию к условиям среды, за появление устойчивости/чувствительности к различным веществам и чаще всего связаны с экологической адаптацией [1, 25].

Пангеном и его части можно представить в виде диаграммы Венна, которая отображает степень сходства исследуемых геномов (рис. 1).

Размеры дополнительного и периферического геномов могут быть значительно больше основного генома, что отражает разнообразие или его отсутствие у различных видов бактерий из разных экологических ниш. Например, предполагается, что дополнительный геном и периферия будут больше у организмов, производящих значительные количества вторичных метаболитов. С другой стороны, патогенные, паразитические и даже комменсальные виды, которые обычно встречаются в узких или специфических биотопах, будут иметь меньший периферический геном [21].

Пангеномы различают по степени их «открытости» и «закрытости». Открытый пангеном характеризуется тем, что число новых семейств генов продолжает расти, независимо от того, сколько новых геномов добавляется к пангеному, то есть общее количество генов только увеличивается. Такое явление типично для видов, которые имеют достаточно широкий ареал обитания, взаимодействуют с другими организмами, живущими в данном биотопе, и могут приобретать различные мобильные генетические элементы. Чем больше и разнообразнее окружение, тем больше вероятность приобретения новой генетической информации за счет горизонтального пере-

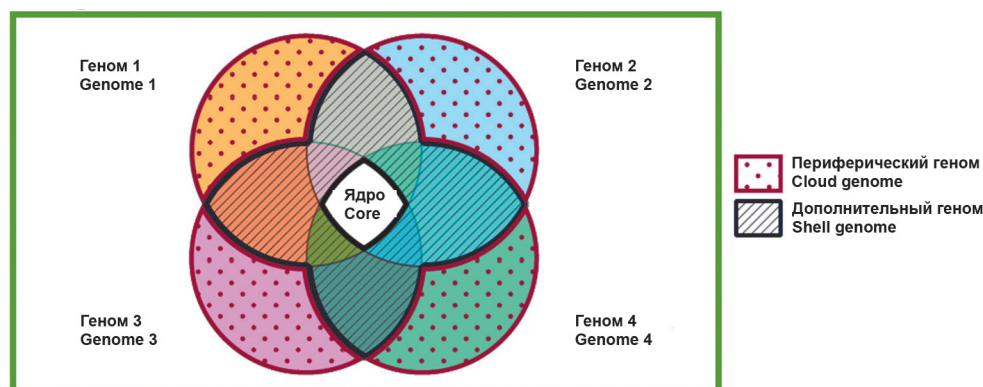


Рис. 1. Визуализация основной (коровой), периферической и дополнительной частей пангенома в виде диаграммы Венна [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Parts\_of\_the\_pangenome.png#/media/File:Parts\_of\_the\_pangenome.png]

Fig. 1. Visualization of the core, peripheral and accessory parts of the pangenome in the form of a Venn diagram [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Parts\_of\_the\_pangenome.png#/media/File:Parts\_of\_the\_pangenome.png]

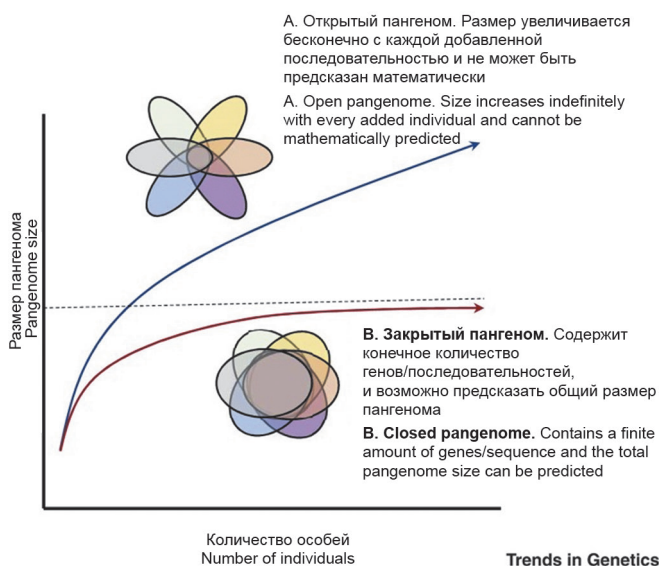


Рис. 2. Визуализация открытого и закрытого пангеномов [26]

Fig. 2. Visualization of open and closed pangenomes [26]

носа генов (рис. 2, А) [26]. Поэтому такие виды имеют открытый пангеном [18, 27].

Именно открытость пангенома и была показана на примере штаммов *S. agalactiae* при первых исследованиях и попытках систематизировать и обобщить данные геномов. Математическая экстраполяция данных показала, что доступный пул генов в пангеноме *S. agalactidae* огромен и что уникальные гены всегда будут продолжать идентифицироваться даже после секвенирования сотен геномов, притом что основной геном (core) достигает минимум 1806 генов и останется относительно постоянным, даже если будет добавлено еще больше геномов. То есть при добавлении каждого нового генома размер пангенома только увеличивался. Позже открытость пангенома была показана на примере и других видов стрептококков. При построении пангенома 44 штаммов *Streptococcus pneumoniae* выяснился интересный факт геномного разнообразия. Основным источником новых генов *S. pneumoniae* оказался другой вид стрептококка – *S. mitis*, чьи гены были получены путем горизонтального переноса. Анализ всего пяти последовательностей *S. pyogenes* показал, что каждый новый геном в среднем вносит 27 новых генов, что и приводит к открытому пангеному [4, 28].

В исследовании [29] при анализе геномов 26 видов рода *Streptococcus* количество общих кодирующих генов было от 1697 до 2376, а основной (core) геном достиг плато около 600 генов, в то время как пангеном *Streptococcus*, вероятно, может превосходить 6000 генов. Это превышает как минимум в три раза средний размер генома типичного вида стрептококка. Хотя этот бесконечный генофонд, очевидно, является простой математической экстраполяцией доступных секвенированных штаммов, он, тем не менее, проясняет тот факт, что некоторые виды демонстрируют чрезвычайную универсальность в содержании генов [12].

Модельный организм *Escherichia coli* представляет собой пример хорошо изученного открытого пангенома. Типовой штамм *E. coli* K12 MG1655 содержит около 4400 генов. Сравнение 20 штаммов *E. coli* показывает, что основным геном (набор генов, общий для этих штаммов) состоит примерно из 2000 генов, а пангеном приближается к 18 тыс. генов. При этом включение дополнительных штаммов обязательно приведет к увеличению этого числа новых генов, но при фиксированной выборке штаммов количество генов быстро стабилизируется. И чуть менее 4000 генов присутствуют в половине любой группы геномов *E. coli* [17, 30, 31].

В закрытом пангеноме (рис. 2, В) начиная с определенного количества штаммов общее число генов не изменяется, пангеном достигает насыщения [26]. У видов с закрытым пангеномом большая часть генов относится к основному (core) геному. Одним из ярких примеров может служить возбудитель сибирской язвы – *Bacillus anthracis*, который принадлежит к группе *B. cereus sensu lato*, состоящей из штаммов: *B. cereus sensu stricto*, *B. thuringiensis*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. weihenstephanensis* [32]. По данным А.Л. Bazinet et al., при анализе 114 полногеномных последовательностей *B. cereus sensu lato* основным геном (core) составил 598 генов (общие гены как минимум для 99 % отобранных последовательностей), а пангеном достиг почти 60 тыс. генов [33].

При построении пангенома *B. anthracis* уже после добавления четырех геномных последовательностей пангеном достигает насыщения. Доля основного генома составляет 99 %. Возможным объяснением может быть относительно «молодой» возраст возбудителя и то, что основное генетическое разнообразие заключено в плазмидах, несущих гены вирулентности. Еще одним объяснением может быть тот факт, что возбудитель сибирской язвы является спорообразующим микроорганизмом и неблагоприятные условия среды переносит в споровой форме (десятилетиями), а какие-либо генетические изменения, горизонтальный перенос генов могут происходить только в стадии вегетативных клеток. Длительные периоды покоя значительно снижают скорость эволюции организма [34].

В этом случае *B. anthracis* можно было бы рассматривать не как настоящий генетический вид сам по себе, а как клон *B. cereus* с очень характерными фенотипическими признаками, обусловленными приобретением плазмиды вирулентности, кодирующей токсины. Таким образом, размер пангенома может являться отражением взаимодействия организма со средой [12, 35].

Еще один пример крайне закрытого пангенома – *Buchnera aphidicola*, эндосимбионт тлей, геном которого за последние 50 млн лет не претерпел ни хромосомных перестроек, ни дупликаций, ни горизонтального переноса генов, демонстрируя таким образом наибольшую стабильность генома, наблюдаемую на сегодняшний день. *B. aphidicola* отно-

сится к порядку *Enterobacterales*, единственный вид рода *Buchnera*. Вид был хорошо изучен на гороховой тле *Acyrtosiphon pisum* [36]. Считается, что у *B. aphidicola* был свободноживущий предок, похожий на современных энтеробактерий, в частности на кишечную палочку. Бактерия обладает некоторыми ключевыми характеристиками своих родственников, энтеробактерий, такими как грамотрицательная клеточная стенка. Однако, в отличие от большинства других грамотрицательных бактерий, у *B. aphidicola* отсутствуют гены, отвечающие за выработку липополисахаридов для внешней мембраны. Длительная связь с тлей, строгая вертикальная передача (трансовариальная передача) привели к удалению генов, необходимых для анаэробного дыхания, синтеза аминокислот, жирных кислот, фосфолипидов и сложных углеводов. В результате появился не только один из самых маленьких известных геномов среди всех живых организмов, но и один из самых генетически стабильных. Предполагается, что симбиотические отношения с тлей начались 160–280 млн лет назад и сохраняются за счет трансовариальной передачи и совместного видообразования [37, 38].

Всего одна нуклеотидная замена в транскрипционной промоторной области гена *ibpA* у некоторых штаммов *B. aphidicola* изменяет термотолерантность как бактерий, так и их насекомых-хозяев, подтверждая, что гибкость штамма также может быть достигнута за счет полиморфизма последовательностей. Стоит отметить, что наблюдаемая геномная гибкость в структурном пангеноме удивительно высока даже у внутриклеточных видов, которые традиционно считаются достаточно стабильными, и эти вариации придают видам некую степень пластичности. Тем не менее следует иметь в виду, что закрытый пангеном не обязательно означает, что все штаммы демонстрируют идентичный фенотип, поскольку разные нуклеотидные полиморфизмы могут придавать уникальные особенности [12, 39]. Таким образом, размер пангенома может быть показателем взаимодействия организмов с факторами окружающей среды (биотической и абиотической природы).

#### Практическое применение пангеномов

**Уточнение эволюционных отношений между видами.** Сборка пангеномов может быть удобным инструментом при изучении внутривидовой эволюции микроорганизмов. По количеству событий, происходящих в результате горизонтального переноса генов и рекомбинаций, можно проследить и проанализировать эволюцию популяций бактерий.

Классификация прокариот на основе фенотипических признаков может быть затруднительной. Особенности биохимической активности, подвижность, наличие генов патогенности не всегда могут отражать реальные отношения между видами или популяциями бактерий. Показателем пример эволюционных отношений между *E. coli* и *Shigella* spp. Род шигелл включает четыре признанных и описанных вида: *S. flexneri*, *S. boydii*, *S. sonnei* и *S. dysenteriae*. Шигелл объединяет между собой и отличает от ки-

шечных палочек наличие общих генов вирулентности, серологические свойства, неспособность ферментировать лактозу, декарбоксилировать лизин. Также шигеллы являются облигатными патогенами и неподвижны [40]. При первоначальном описании это и послужило основанием для выделения шигелл в отдельный род. При филогенетическом анализе популяции кишечных палочек и шигелл и последующей сборке совместного пангенома было показано, что шигеллы обладают тем же основным геномом, что и кишечные палочки, со средней идентичностью основных генов более 98 %. Таким образом, *Shigella* spp. представляет собой подмножество штаммов *E. coli* с общим фенотипом, обусловленным независимым приобретением в результате горизонтального переноса дополнительных генов. На сегодняшний день признано, что шигеллы являются частью вида *E. coli*, но таксономия их не пересматривалась. Данный пример показывает, что построение пангенома и оценка его эволюционной динамики представляют собой достаточно сложную проблему для расшифровки взаимосвязей между фенотипами, геномом, экологией прокариот и определения того, как эти характеристики коррелируют с таксономическим положением [18, 31, 41].

**Пангеномы для эпидемиологических исследований.** Возможности полногеномного секвенирования существенно изменили подходы исследований в эпидемиологии и, в частности, в молекулярной эпидемиологии. Различные методы генотипирования являются удобными инструментами для отслеживания распространения, изменения и эволюции патогенов. На примере распространения вируса SARS-CoV-2 был продемонстрирован огромный потенциал возможностей геномной эпидемиологии. Большое количество исследований и публикаций за все время пандемии предсказывали и уточняли особенности передачи вируса, мутации. Можно еще добавить, что если в допандемийную эпоху геномный анализ обычно ограничивался несколькими десятками и сотнями геномов, то в период пандемии новой коронавирусной инфекции количество секвенированных геномов SARS-CoV-2 росло в геометрической прогрессии, что и дало новый толчок к развитию молекулярной эпидемиологии [42–44].

В случае с бактериальными патогенами, особенно клинически значимыми и особо опасными, геномные исследования используются при расследовании вспышек и для контроля за распространением патогенов. Стандартным методом является изучение генетических вариаций, в частности однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в основном (core) геноме, которые присутствуют во всех исследуемых изолятах. По изменениям в основном геноме можно отслеживать время, когда произошли данные изменения, устанавливать родственные связи и происхождение изолятов в силу невысокой скорости происходящих эволюционных событий.

Происхождение вспышки холеры на Гаити в 2010 г. было установлено с помощью пангеномно-

го анализа холерного вибриона. Изначально было не совсем ясно, возникла эпидемия из-за местного или завозного штамма. Эпидемиологическое исследование и последующий анализ полных геномов с реконструкцией филогенетических деревьев показали, что эпидемия была вызвана штаммом из Юго-Восточной Азии. Изоляты имели аллель гена *ctxB7*, которая имела три однонуклеотидные замены в позициях C58A, T115C, T203C, как раз характерную для штаммов новых геновариантов, появившихся и распространившихся из Индии [45–47].

Однако для некоторых видов бактерий бывает трудно отличить изоляты, появившиеся в короткий временной промежуток, так как в основном геноме может не накопиться достаточного количества вариаций (SNP), чтобы отличить изоляты друг от друга. Поскольку достаточно большой объем генетической информации содержится в дополнительном геноме, изменения в нем могут послужить ключом для установления динамики развития и изменения исследуемых изолятов.

В работе 2021 г. [48] анализировалось распространение и циркуляция *Acinetobacter baumannii* в различных отделениях городской больницы Гвадалахары (Мексика) на протяжении десяти лет. Несмотря на то, что *A. baumannii* является одним из наиболее важных внутрибольничных патогенов с широкой и множественной лекарственной устойчивостью во всем мире, довольно мало известно о генетическом разнообразии линий *A. baumannii*, существующих в условиях больницы. На основе анализа почти 300 геномов показан факт нескольких заносов линий от международного клона, а молекулярное датирование показало, что эти интродукции были в 2006, 2007 и 2013 гг. Анализ дополнительного генома показал, что эти линии были широко распространены во многих отделениях больницы. Результаты данной работы продемонстрировали, что вариабельность дополнительного генома может быть мощным инструментом геномной эпидемиологии. Как дополнительный, так и основной геном могут быть использованы для понимания динамики передачи и распространения бактериальных патогенов. Возможно, что именно такие комплексные исследования могут стать отправной точкой для более тщательного анализа динамики распространения патогенов в очень коротких микроэволюционных масштабах [49, 50].

**Пангеномная вакцинология.** Виды с открытыми пангеномами оказывают влияние на отбор потенциальных кандидатов для вакцин. Как было показано ранее, дополнительный геном вносит достаточно весомый вклад в разнообразие антигенов. Можно представить, что для некоторых видов бактерий универсальная вакцина была бы возможна только при включении комбинации антигенов из основного и дополнительного геномов. Изучение структуры и динамики популяций патогенов стало ключевым элементом в исследовании и разработке вакцин, проложив путь к современному подходу,

названному «пангеномная обратная вакцинология» [51–53]. Обратная вакцинология в настоящее время является распространенным приемом разработки потенциальных вакцин-кандидатов путем скрининга протеома патогена (с использованием различных биоинформационных платформ) наиболее перспективных белков, а также определения их локализации, антигенных и физико-химических свойств. В сравнении с традиционными методами разработки вакцин, обратная вакцинология может помочь не только сократить время и затраты на разработку вакцин, но и определить перспективные антигенные структуры, присутствующие в небольших количествах или на определенных стадиях жизненного цикла патогена [54, 55].

Первой зарегистрированной и применяемой в настоящее время вакциной, созданной с помощью методов обратной вакцинологии, стала вакцина против *Neisseria meningitidis* серогруппы B [19, 55]. При анализе всего одного секвенированного полного генома *N. meningitidis* серогруппы B удалось определить 350 поверхностных белков, которые в дальнейшем использовали для иммунизации мышей. Затем были отобраны в качестве антигенов три белка (NadA, fHbp, NHBA), показавшие высокую защитную способность и максимальный охват антигенной изменчивости штаммов *N. meningitidis* серогруппы B. Таким образом была создана четырехкомпонентная вакцина 4CMenB (Bexsero®(GSK Vaccines)), содержащая еще и высокоиммуногенный компонент везикул наружной мембраны менингококков PorA P1.4. Вакцина одобрена для использования с 2013 г. в Европе для всех возрастных групп, с 2015 г. – в США для лиц от 10 до 25 лет, в РФ в 2022 г. получено регистрационное удостоверение на использование данного иммунобиологического препарата [55–57].

Принципы пангеномной обратной вакцинологии позволяют расширить парадигму обратной вакцинологии, основанную на единой, эталонной последовательности генома. В качестве примера можно привести выявление антигенов бруцелл. В двух исследованиях [58, 59] методы обратной вакцинологии применялись только для одного штамма – *Brucella melitensis* 16M. При этом были использованы неадекватные критерии отбора антигенов. Из-за различий содержания генов между штаммами стало крайне важно проанализировать несколько штаммов данного вида или рода бактерий, чтобы идентифицировать основной геном, который содержит желаемые, нужные, а главное – универсальные защитные антигены. Позже, в работе 2018 г. [60], поиск потенциальных кандидатов на консервативные антигены проводили уже среди *B. melitensis*, *B. abortus* и *B. suis*, вызывающих заболевания человека и домашних животных. Анализ заключался в определении основных генов уже большого количества геномов трех вышеупомянутых видов бруцелл с последующей стратегией рационального отбора антигенов. Это одно из первых исследований, сочетающее подходы и методы

пангенома и обратной вакцинологии для выявления потенциальных защитных антигенов, которые затем можно использовать для разработки универсальной вакцины против трех наиболее патогенных видов бруцелл.

Следует отметить, что функциональность набора выбранных белков-кандидатов как перспективных антигенов вакцины может варьироваться и изменяться в зависимости от условий окружающей среды, инфицирования различных органов. Пангеном же может давать информацию об этих особенностях и изменениях, включая, например, данные об изолятах со склонностью поражать определенные органы по сравнению с другими. В итоге сочетание пангеномной обратной вакцинологии с другими мультиомиксными подходами и технологиями может давать больше информации для рационального проектирования целевых вакцин следующего поколения и, возможно, приведет к созданию наиболее перспективных и многообещающих составов [19].

Таким образом, изучение пангеномов и геномного разнообразия является очень актуальным и востребованным направлением. Распространение и удешевление технологий секвенирования, а также наличие разнообразного программного обеспечения позволяют более полно использовать полученные данные. В настоящее время происходит сдвиг парадигмы: от сосредоточения внимания на единственном «эталонном» геноме к использованию пангенома. При этом изучение пангеномов находит все более широкое применение в самых различных исследованиях. И весьма вероятно, что изучение бактериального пангенома приведет к получению новых данных, связанных с метаболизмом, патогенностью, изменчивостью микроорганизмов, которые невозможно предсказать с помощью традиционных методов геномики и микробиологии.

**Конфликт интересов.** Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

**Финансирование.** Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

## Список литературы

1. Krassowski M., Das V., Sahu S.K., Misra B.B. State of the field in multi-omics research: from computational needs to data mining and sharing. *Front. Genet.* 2020; 11:610798. DOI: 10.3389/fgene.2020.610798.
2. Vailati-Riboni M., Palombo V., Loor J.J. What are omics sciences? In: Ametaj B., editor. *Periparturient Diseases of Dairy Cows*. Springer, Cham; 2017. DOI: 10.1007/978-3-319-43033-1\_1.
3. Sherman R.M., Salzberg S.L. Pan-genomics in the human genome era. *Nat. Rev. Genet.* 2020. 21(4):243–54. DOI: 10.1038/s41576-020-0210-7.
4. Tettelin H., Massignani V., Cieslewicz M.J., Donati C., Medini D., Ward N.L., Angiuoli S.V., Crabtree J., Jones A.L., Durkin A.S., Deboy R.T., Davidsen T.M., Mora M., Scarselli M., Margarit y Ros I., Peterson J.D., Hauser C.R., Sundaram J.P., Nelson W.C., Madupu R., Brinkac L.M., Dodson R.J., Rosovitz M.J., Sullivan S.A., Daugherty S.C., Haft D.H., Selengut J., Gwinn M.L., Zhou L., Zafar N., Khouri H., Radune D., Dimitrov G., Watkins K., O'Connor K.J., Smith S., Utterback T.R., White O., Rubens C.E., Grandi G., Madoff L.C., Kasper D.L., Telford J.L., Wessels M.R., Rappuoli R., Fraser C.M. Genome analysis of multiple pathogenic isolates of *Streptococcus agalactiae*: implications for the microbial “pan-genome”. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2005; 102(39):13950–5. DOI: 10.1073/pnas.0506758102.
5. Medini D., Donati C., Tettelin H., Massignani V., Rappuoli R. The microbial pan-genome. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2005; 15(6):589–94. DOI: 10.1016/j.gde.2005.09.006.
6. Liao W.W., Asri M., Ebler J., Doerr D., Haukness M., Hickey G., Lu S., Lucas J.K., Monlong J., Abel H.J., Buonaiuto S., Chang X.H., Cheng H., Chu J., Colonna V., Eizenga J.M., Feng X., Fischer C., Fulton R.S., Garg S., Groza C., Guarracino A., Harvey W.T., Heumos S., Howe K., Jain M., Lu T.Y., Markello C., Martin F.J., Mitchell M.W., Munson K.M., Mwaniki M.N., Novak A.M., Olsen H.E., Pesout T., Porubsky D., Prins P., Sibbesen J.A., Sirén J., Tomlinson C., Villani F., Völger M.R., Antonacci-Fulton L.L., Baid G., Baker C.A., Belyaeva A., Billis K., Carroll A., Chang P.-C., Cody S., Cook D.E., Cook-Deegan R.M., Cornejo O.E., Diekhans M., Ebert P., Fairley S., Fedrigo O., Felsenfeld A.L., Formenti G., Frankish A., Gao Y., Garrison N.A., Giron C.G., Green R.E., Haggerty L., Hoekzema K., Hourlier T., Ji H.P., Kenny E.E., Koenig B.A., Kolesnikov A., Korb J.O., Kordosky J., Koren S., Lee H., Lewis A.P., Magalhães H., Marco-Sola S., Marijon P., McCartney A., McDaniel J., Mountcastle J., Nattestad M., Nurk S., Olson N.D., Popejoy A.B., Puiu D., Rautiainen M., Regier A.A., Rhie A., Sacco S., Sanders A.D., Schneider V.A., Schultz B.I., Shafin K., Smith M.W., Sofia H.J., Abou Tayoun A.N., Thibaud-Nissen F., Tricom F.F., Wagner J., Walenz B., Wood J.M.D., Zimin A.V., Bourque G., Chaisson M.J.P., Flicek P., Phillippy A.M., Zook J.M., Eichler E.E., Haussler D., Wang T., Jarvis E.D., Miga K.H., Garrison E., Marschall T., Hall I. M., Li H., Paten B. A draft human pangenome reference. *Nature.* 2023; 617(7960):312–24. DOI: 10.1038/s41586-023-05896-x.
7. Chen S., Wang P., Kong W., Zhang S., Yu J., Wang Y., Jiang M., Lei W., Chen X., Wang W., Gao Y., Qu S., Wang F., Wang Y., Zhang Q., Gu M., Fang K., Ma C., Sun W., Ye N., Wu H., Zhang X. Gene mining and genomics-assisted breeding empowered by the pangenome of tea plant *Camellia sinensis*. *Nat. Plants.* 2023; 9(12):1986–99. DOI: 10.1038/s41477-023-01565-z.
8. McCarthy C.G.P., Fitzpatrick D.A. Pan-genome analyses of model fungal species. *Microb. Genom.* 2019; 5(2):e000243. DOI: 10.1099/mgen.0.000243.
9. Li R., Fu W., Su R., Tian X., Du D., Zhao Y., Zheng Z., Chen Q., Gao S., Cai Y., Wang X., Li J., Jiang Y. Towards the complete goat pan-genome by recovering missing genomic segments from the reference genome. *Front. Genet.* 2019; 10:1169. DOI: 10.3389/fgene.2019.01169.
10. Martinez-Murcia A.J., Benlloch S., Collinset M.D. Phylogenetic interrelationships of members of the genera *Aeromonas* and *Plesiomonas* as determined by 16S ribosomal DNA sequencing: lack of congruence with results of DNA-DNA hybridizations. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1992; 42(3):412–21. DOI: 10.1099/00207713-42-3-412.
11. Bergthorsson U., Ochman H. Distribution of chromosome length variation in natural isolates of *Escherichia coli*. *Mol. Biol. Evol.* 1998; 15(1):6–16. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a025847.
12. Mira A., Martín-Cuadrado A.B., D’Auria G., Rodríguez-Valera F. The bacterial pan-genome: a new paradigm in microbiology. *Int. Microbiol.* 2010; 13(2):45–57. DOI: 10.2436/20.1501.01.110.
13. Fleischmann R.D., Adams M.D., White O., Clayton R.A., Kirkness E.F., Kerlavage A.R., Bult C.J., Tomb J.F., Dougherty B.A., Merrick J.M., McKenney K., Sutton G., FitzHugh W., Fields C., Gocayne J.D., Scott J., Shirley J., Liu L.I., Glodek A., Kelley J.M., Weidman J.F., Phillips C.A., Spriggs T., Hedblom E., Cotton M.D., Utterback T.R., Hanna M.C., Nguyen D.T., Saudek D.M., Brandon R.C., Fine L.D., Fritchman J.L., Fuhrmann J.L., Geoghagen N.S.M., Gnehm C.L., McDonald L.A., Small K.V., Fraser C.M., Smith H.O., Venter J.C. Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd. *Science.* 1995; 269(5223):496–512. DOI: 10.1126/science.7542800.
14. Goffeau A., Barrell B.G., Bussey H., Davis R.W., Dujon B., Feldmann H., Galibert F., Hoheisel J.D., Jacq C., Johnston M., Louis E.J., Mewes H.W., Murakami Y., Philippsen P., Tettelin H., Oliver S.G. Life with 6000 genes. *Science.* 1996; 274(5287):546–67. DOI: 10.1126/science.274.5287.546.
15. Blattner F.R., Plunkett G. 3rd, Bloch C.A., Perna N.T., Burland V., Riley M., Collado-Vides J., Glasner J.D., Rode C.K., Mayhew G.F., Gregor J., Davis N.W., Kirkpatrick H.A., Goeden M.A., Rose D.J., Mau B., Shao Y. The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science.* 1997; 277(5331):1453–62. DOI: 10.1126/science.277.5331.1453.
16. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature.* 2001. 409:860–921. DOI: 10.1038/35057062.
17. Computational Pan-Genomics Consortium. Computational pan-genomics: status, promises and challenges. *Brief. Bioinform.* 2018; 19(1):118–135. DOI: 10.1093/bib/bbw089.
18. Tettelin H., Medini D., editors. *The Pangenome: Diversity, Dynamics and Evolution of Genomes*. Cham, Switzerland: Springer Nature; 2020. 307 p. DOI: 10.1007/978-3-030-38281-0.

19. Pizza M., Scarlato V., Masignani V., Giuliani M.V., Arico B., Comanducci M., Jennings G.T., Baldi L., Bartolini E., Capecci B., Galeotti G.L., Luzzi E., Manetti R., Marchetti E., Mora M., Nuti S., Ratti G., Santini L., Savino S., Scarselli M., Storni E., Zuo P., Broecker M., Hundt E., Knapp B., Blair E., Mason T., Tettelin H., Hood D.W., Jeffries A.C., Saunders N.J., Granoff D.M., Venter J.C., Moxon E.R., Grandi G., Rappuoli R. Identification of vaccine candidates against serogroup B meningococcus by whole-genome sequencing. *Science*. 2000; 287(5459):1816–20. DOI: 10.1126/science.287.5459.1816.
20. Tettelin H., Saunders N.J., Heidelberg J., Jeffries A.C., Nelson K.E., Eisen J.E., Ketchum K.A., Hood D.W., Peden J.F., Dodson R.J., Nelson W.C., Gwinn M.L., DeBoy R., Peterson J.D., Hickey E.K., Haft D.H., Salzberg S.L., White O., Fleischmann R.D., Dougherty B.A., Mason T., Ciecko A., Parksey D.S., Blair E., Cittone H., Clark E.B., Cotton M.D., Utterback T.R., Khouri H., Qin H., Vamathevan J., Gill J., Scarlato V., Masignani V., Pizza M., Grandi G., Sun L., Smith H.O., Fraser C.M., Moxon E.R., Rappuoli R., Venter J.C. Complete genome sequence of *Neisseria meningitidis* serogroup B strain MC58. *Science*. 2000; 287(5459):1809–15. DOI: 10.1126/science.287.5459.1809.
21. Snipen L., Ussery D.W. Standard operating procedure for computing pangenome trees. *Stand. Genomic. Sci.* 2010; 2(1):135–41. DOI: 10.4056/signs.38923.
22. Kaas R.S., Friis C., Ussery D.W., Aarestrup F.M. Estimating variation within the genes and inferring the phylogeny of 186 sequenced diverse *Escherichia coli* genomes. *BMC Genomics*. 2012; 13:577. DOI: 10.1186/1471-2164-13-577.
23. Mosquera-Rendón J., Rada-Bravo A.M., Cárdenas-Brito S., Corredor M., Restrepo-Pineda E., Benítez-Páez A. Pangenome-wide and molecular evolution analyses of the *Pseudomonas aeruginosa* species. *BMC Genomics*. 2016; 17:45. DOI: 10.1186/s12864-016-2364-4.
24. Medini D., Serruto D., Parkhill J., Relman D.A., Donati C., Moxon R., Falkow S., Rappuoli R. Microbiology in the post-genomic era. *Nat. Rev. Microbiol.* 2008; 6(6):419–30. DOI: 10.1038/nrmicro1901.
25. Vernikos G., Medini D., Riley D.R., Tettelin H. Ten years of pan-genome analyses. *Curr. Opin. Microbiol.* 2015; 23:148–54. DOI: 10.1016/j.mib.2014.11.016.
26. Golicz A.A., Bayer P.E., Bhalla P.L., Batley J., Edwards D. Pangenomics comes of age: from bacteria to plant and animal applications. *Trends Genet.* 2020; 36(2):132–45. DOI: 10.1016/j.tig.2019.11.006.
27. Costa S.S., Guimarães L.C., Silva A., Soares S.C., Baraúna R.A. First steps in the analysis of prokaryotic pan-genomes. *Bioinform. Biol. Insights*. 2020; 14:1177932220938064. DOI: 10.1177/1177932220938064.
28. Donati C., Hiller N.L., Tettelin H., Muzzi A., Croucher N.J., Angiuoli S.V., Oggioni M., Dunning Hotopp J.C., Hu F.Z., Riley D.R., Covacci A., Mitchell T.J., Bentley S.D., Kilian M., Ehrlich G.D., Rappuoli R., Moxon E.R., Masignani V. Structure and dynamics of the pan-genome of *Streptococcus pneumoniae* and closely related species. *Genome Biol.* 2010; 11(10):R107. DOI: 10.1186/gb-2010-11-10-r107.
29. Lefebvre T., Stanhope M.J. Evolution of the core and pan-genome of *Streptococcus*: positive selection, recombination, and genome composition. *Genome Biol.* 2007; 8(5):R71. DOI: 10.1186/gb-2007-8-5-r71.
30. Hayashi K., Morooka N., Yamamoto Y., Fujita K., Isono K., Choi S., Ohtsubo E., Baba T., Wanner B.L., Mori H., Horiuchi T. Highly accurate genome sequences of *Escherichia coli* K-12 strains MG1655 and W3110. *Mol. Syst. Biol.* 2006; 2:2006.0007. DOI: 10.1038/msb4100049.
31. Gordienko E.N., Kazanov M.D., Gelfand M.S. Evolution of pan-genomes of *Escherichia coli*, *Shigella* spp., and *Salmonella enterica*. *J. Bacteriol.* 2013; 195(12):2786–92. DOI: 10.1128/jb.02285-12.
32. Zwick M.E., Joseph S.J., Didelot X., Chen P.E., Bishop-Lilly K.A., Stewart A.C., Willner K., Nolan N., Lentz S., Thomason M.K., Sozhamannan S., Mateczun A.J., Du L., Read T.D. Genomic characterization of the *Bacillus cereus* sensu lato species: backdrop to the evolution of *Bacillus anthracis*. *Genome Res.* 2012; 22(8):1512–24. DOI: 10.1101/gr.134437.111.
33. Bazinet A.L. Pan-genome and phylogeny of *Bacillus cereus* sensu lato. *BMC Evol. Biol.* 2017; 17(1):176. DOI: 10.1186/s12862-017-1020-1.
34. Keim P., Gruendike J.M., Klevytska A.M., Schupp J.M., Challacombe J., Okinaka R. The genome and variation of *Bacillus anthracis*. *Mol. Aspects. Med.* 2009; 30(6):397–405. DOI: 10.1016/j.mam.2009.08.005.
35. Mbengue M., Lo F.T., Diallo A.A., Ndiaye Y.S., Diouf M., Ndiaye M. Pan-genome analysis of Senegalese and Gambian strains of *Bacillus anthracis*. *Afr. J. Biotechnol.* 2016; 15(45):2538–46. DOI: 10.5897/AJB2016.14902.
36. Wernegreen J.J. Genome evolution in bacterial endosymbionts of insects. *Nat. Rev. Genet.* 2002; 3(11):850–61. DOI: 10.1038/nrg931.
37. Banerjee S., Hess D., Majumder P., Roy D., Das S. The Interactions of *Allium sativum* leaf agglutinin with a chaperonin group of unique receptor protein isolated from a bacterial endosymbiont of the mustard aphid. *J. Biol. Chem.* 2004; 279(22):23782–9. DOI: 10.1074/jbc.M401405200.
38. Gil R., Sabater-Muñoz B., Latorre A., Silva F.J., Moya A. Extreme genome reduction in *Buchnera* spp.: toward the minimal genome needed for symbiotic life. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2002; 99(7):4454–8. DOI: 10.1073/pnas.062067299.
39. Dunbar H.E., Wilson A.C., Ferguson N.R., Moran N.A. Aphid thermal tolerance is governed by a point mutation in bacterial symbionts. *PLoS Biol.* 2007; 5(5):e96. DOI: 10.1371/journal.pbio.0050096.
40. Garrity G., editor. *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*. Vol. 2: The Proteobacteria. Part B: The Gammaproteobacteria. Springer Science, Business Media; 2007. P. 811–22.
41. Escobar-Páramo P., Giudicelli C., Parsot C., Denamur E. The evolutionary history of *Shigella* and enteroinvasive *Escherichia coli* revised. *J. Mol. Evol.* 2003; 57(2):140–8. DOI: 10.1007/s00239-003-2460-3.
42. Краснов Я.М., Попова А.Ю., Сафронов В.А., Федоров А.В., Баданин Д.В., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Анализ геномного разнообразия SARS-CoV-2 и эпидемиологических признаков адаптации возбудителя COVID-19 к человеческой популяции (Сообщение 1). *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; (3):70–82. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-70-82.
43. Gong Y.N., Lee K.M., Shih S.R. Evolution and epidemiology of SARS-CoV-2 virus. *Methods Mol. Biol.* 2022; 2452:3–18. DOI: 10.1007/978-1-0716-2111-0\_1.
44. Parlikar A., Kalia K., Sinha S., Patnaik S., Sharma N., Vemuri S.G., Sharma G. Understanding genomic diversity, pan-genome, and evolution of SARS-CoV-2. *PeerJ*. 2020; 8:e9576. DOI: 10.7717/peerj.9576.
45. Chin C.S., Sorenson J., Harris J.B., Robins W.P., Charles R.C., Jean-Charles R.R., Bullard J., Webster D.R., Kasarskis A., Peluso P., Paxinos E.E., Yamaichi Y., Calderwood S.D., Mekalanos J.J., Schadt E.E., Waldor M.K. The origin of the Haitian cholera outbreak strain. *N. Engl. J. Med.* 2011; 364(1):33–42. DOI: 10.1056/NEJMoal1012928.
46. Hasan N.A., Choi S.Y., Eppinger M., Clark P.W., Chen A., Alam M., Haley B.J., Taviani E., Hine E., Su Q., Tallon L.J., Prosper J.B., Furth K., Hoq M.M., Li H., Fraser-Liggett C.M., Cravioto A., Huq A., Ravel J., Cebula T.A., Colwell R.R. Genomic diversity of 2010 Haitian cholera outbreak strains. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2012; 109(29):E2010-7. DOI: 10.1073/pnas.1207359109.
47. Kim E.J., Lee D., Moon S.H., Lee C.H., Kim S.J., Lee J.H., Kim J.O., Song M., Das B., Clemens J.D., Pape J.W., Nair G.B., Kim D.W. Molecular insights into the evolutionary pathway of *Vibrio cholerae* O1 atypical El Tor variants. *PLoS Pathog.* 2014; 10(9):e1004384. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004384.
48. Mateo-Estrada V., Fernández-Vázquez J.L., Moreno-Manjón J., Hernández-González I.L., Rodríguez-Noriega E., Morfin-Otero R., Alcántar-Curiel M.D., Castillo-Ramírez S. Accessory genomic epidemiology of cocirculating *Acinetobacter baumannii* clones. *mSystems*. 2021; 6(4):e0062621. DOI: 10.1128/mSystems.00626-21.
49. Castillo-Ramírez S. Beyond microbial core genomic epidemiology: towards pan genomic epidemiology. *Lancet Microbe*. 2022; 3(4):e244–e245. DOI: 10.1016/S2666-5247(22)00058-1.
50. Mora M., Donati C., Medini D., Covacci A., Rappuoli R. Microbial genomes and vaccine design: refinements to the classical reverse vaccinology approach. *Curr. Opin. Microbiol.* 2006; 9(5):532–6. DOI: 10.1016/j.mib.2006.07.003.
51. Donati C., Medini D., Rappuoli R. Pangenomic reverse vaccinology. In: Sintchenko V., editor. *Infectious Disease Informatics*. Springer, New York; 2010. P. 203–22. DOI: 10.1007/978-1-4419-1327-2\_10.
52. Budroni S., Siena E., Dunning Hotopp J.C., Seib K.L., Serruto D., Nofroni C., Comanducci M., Riley D.R., Daugherty S.C., Angiuoli S.V., Covacci A., Pizza M., Rappuoli R., Moxon E.R., Tettelin H., Medini D. *Neisseria meningitidis* is structured in clades associated with restriction modification systems that modulate homologous recombination. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2011; 108(11):4494–9. DOI: 10.1073/pnas.1019751108.
53. Ribas-Aparicio R.M., Castelan-Vega J.A., Jiménez-Alberto A., Monterrubio-López G.P., Aparicio-Ozores G. The impact of bioinformatics on vaccine design and development. In: Afrin F., Hemeg H., Ozbak H., editors. *Vaccines*. InTech; 2017. P. 123–45. DOI: 10.5772/intechopen.69273.
54. Rappuoli R., De Gregorio E., Del Giudice G., Phogat S., Pecetta S., Pizza M., Hanon E. Vaccinology in the post-COVID-19 era. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2021; 118(3):e2020368118. DOI: 10.1073/pnas.2020368118.
55. Masignani V., Pizza M., Moxon E.R. The development of a vaccine against meningococcus B using reverse vaccinology. *Front. Immunol.* 2019; 10:751. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00751.
56. Pizza M., Scarlato V., Masignani V., Giuliani M.M., Arico B., Comanducci M., Jennings G.T., Baldi L., Bartolini E., Capecci B.,

- Galeotti C.L., Luzzi E., Manetti R., Marchetti E., Mora M., Nuti S., Ratti G., Santini L., Savino S., Scarselli M., Storni E., Zuo P., Broeker M., Hundt E., Knapp B., Blair E., Mason T., Tettelin H., Hood D.W., Jeffries A.C., Saunders N.J., Granoff D.M., Venter J.C., Moxon E.R., Grandi G., Rappuoli R. Identification of vaccine candidates against serogroup B meningococcus by whole-genome sequencing. *Science*. 2000; 287(5459):1816–20. DOI: 10.1126/science.287.5459.1816.
57. Дятлова В.И. Применение методов обратной вакцинологии для разработки новых вакцин против бруцеллеза. *Бактериология*. 2021; 6(4):16–29. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-4-16-29.
58. Vishnu U.S., Sankarasubramanian J., Gunasekaran P., Rajendhran J. Novel vaccine candidates against *Brucella melitensis* identified through reverse vaccinology approach. *OMICS*. 2015; 9(11):722–9. DOI: 10.1089/omi.2015.0105.
59. Gomez G., Pei J., Mwangi W., Adams L.G., Rice-Ficht A., Ficht T.A. Immunogenic and invasive properties of *Brucella melitensis* 16M outer membrane protein vaccine candidates identified via a reverse vaccinology approach. *PLoS One*. 2013; 8(3):e59751. DOI: 10.1371/journal.pone.0059751.
60. Hisham Y., Ashhab Y. Identification of cross-protective potential antigens against pathogenic *Brucella* spp. through combining pan-genome analysis with reverse vaccinology. *J. Immunol. Res.* 2018; 2018:1474517. DOI: 10.1155/2018/1474517.
- ## References
1. Krassowski M., Das V., Sahu S.K., Misra B.B. State of the field in multi-omics research: from computational needs to data mining and sharing. *Front. Genet.* 2020; 11:610798. DOI: 10.3389/fgenet.2020.610798.
  2. Vailati-Riboni M., Palombo V., Looor J.J. What are omics sciences? In: Ametaj B., editor. *Periparturient Diseases of Dairy Cows*. Springer, Cham; 2017. DOI: 10.1007/978-3-319-43033-1\_1.
  3. Sherman R.M., Salzberg S.L. Pan-genomics in the human genome era. *Nat. Rev. Genet.* 2020; 21(4):243–54. DOI: 10.1038/s41576-020-0210-7.
  4. Tettelin H., Massignani V., Cieslewicz M.J., Donati C., Medini D., Ward N.L., Angiuoli S.V., Crabtree J., Jones A.L., Durkin A.S., Deboy R.T., Daviden T.M., Mora M., Scarselli M., Margarit y Ros I., Peterson J.D., Hauser C.R., Sundaram J.P., Nelson W.C., Madupu R., Brinkac L.M., Dodson R.J., Rosovitz M.J., Sullivan S.A., Daugherty S.C., Haft D.H., Selengut J., Gwinn M.L., Zhou L., Zafar N., Khouri H., Radune D., Dimitrov G., Watkins K., O'Connor K.J., Smith S., Utterback T.R., White O., Rubens C.E., Grandi G., Madoff L.C., Kasper D.L., Telford J.L., Wessels M.R., Rappuoli R., Fraser C.M. Genome analysis of multiple pathogenic isolates of *Streptococcus agalactiae*: implications for the microbial "pan-genome". *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2005; 102(39):13950–5. DOI: 10.1073/pnas.0506758102.
  5. Medini D., Donati C., Tettelin H., Massignani V., Rappuoli R. The microbial pan-genome. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2005; 15(6):589–94. DOI: 10.1016/j.gde.2005.09.006.
  6. Liao W.W., Asri M., Ebler J., Doerr D., Haukness M., Hickey G., Lu S., Lucas J.K., Monlong J., Abel H.J., Buonaiuto S., Chang X.H., Cheng H., Chu J., Colonna V., Eizenga J.M., Feng X., Fischer C., Fulton R.S., Garg S., Groza C., Guarracino A., Harvey W.T., Heumos S., Howe K., Jain M., Lu T.Y., Markello C., Martin F.J., Mitchell M.W., Munson K.M., Mwaniki M.N., Novak A.M., Olsen H.E., Pesout T., Porubsky D., Prins P., Sibbesen J. A., Sirén J., Tomlinson C., Villani F., Vollger M.R., Antonacci-Fulton L.L., Baid G., Baker C.A., Belyaeva A., Billis K., Carroll A., Chang P.-C., Cody S., Cook D.E., Cook-Deegan R.M., Cornejo O.E., Diekhans M., Ebert P., Fairley S., Fedrigo O., Felsenfeld A.L., Formenti G., Frankish A., Gao Y., Garrison N.A., Giron C.G., Green R.E., Haggerty L., Hoekzema K., Hourlier T., Ji H.P., Kenny E.E., Koenig B.A., Kolesnikov A., Korb J.O., Kordosky J., Koren S., Lee H., Lewis A.P., Magalhães H., Marco-Sola S., Marijon P., McCartney A., McDaniel J., Mountcastle J., Nattestad M., Nurk S., Olson N.D., Popejoy A.B., Puiu D., Rautiainen M., Regier A.A., Rhie A., Sacco S., Sanders A.D., Schneider V.A., Schultz B.I., Shafin K., Smith M.W., Sofia H.J., Abou Tayoun A.N., Thibaud-Nissen F., Tricom F.F., Wagner J., Walenz B., Wood J.M.D., Zimin A.V., Bourque G., Chaisson M.J.P., Flicek P., Phillippy A.M., Zook J.M., Eichler E.E., Haussler D., Wang T., Jarvis E.D., Miga K.H., Garrison E., Marshall T., Hall I. M., Li H., Paten B. A draft human pangenome reference. *Nature*. 2023; 617(7960):312–24. DOI: 10.1038/s41586-023-05896-x.
  7. Chen S., Wang P., Kong W., Zhang S., Yu J., Wang Y., Jiang M., Lei W., Chen X., Wang W., Gao Y., Qu S., Wang F., Wang Y., Zhang Q., Gu M., Fang K., Ma C., Sun W., Ye N., Wu H., Zhang X. Gene mining and genomics-assisted breeding empowered by the pangenome of tea plant *Camellia sinensis*. *Nat. Plants*. 2023; 9(12):186–99. DOI: 10.1038/s41477-023-01565-z.
  8. McCarthy C.G.P., Fitzpatrick D.A. Pan-genome analyses of model fungal species. *Microb. Genom.* 2019; 5(2):e000243. DOI: 10.1099/mgen.0.000243.
  9. Li R., Fu W., Su R., Tian X., Du D., Zhao Y., Zheng Z., Chen Q., Gao S., Cai Y., Wang X., Li J., Jiang Y. Towards the complete goat pan-genome by recovering missing genomic segments from the reference genome. *Front. Genet.* 2019; 10:1169. DOI: 10.3389/fgenet.2019.01169.
  10. Martinez-Murcia A.J., Benlloch S., Collinset M.D. Phylogenetic interrelationships of members of the genera *Aeromonas* and *Plesiomonas* as determined by 16S ribosomal DNA sequencing: lack of congruence with results of DNA-DNA hybridizations. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1992; 42(3):412–21. DOI: 10.1099/00207713-42-3-412.
  11. Bergthorsson U., Ochman H. Distribution of chromosome length variation in natural isolates of *Escherichia coli*. *Mol. Biol. Evol.* 1998; 15(1):6–16. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a025847.
  12. Mira A., Martín-Cuadrado A.B., D'Auria G., Rodríguez-Valera F. The bacterial pan-genome: a new paradigm in microbiology. *Int. Microbiol.* 2010; 13(2):45–57. DOI: 10.2436/20.1501.01.110.
  13. Fleischmann R.D., Adams M.D., White O., Clayton R.A., Kirkness E.F., Kerlavage A.R., Bult C.J., Tomb J.F., Dougherty B.A., Merrick J.M., McKenney K., Sutton G., FitzHugh W., Fields C., Gocayne J.D., Scott J., Shirley R., Liu L.I., Glodek A., Kelley J.M., Weidman J.F., Phillips C.A., Spriggs T., Hedblom E., Cotton M.D., Utterback T.R., Hanna M.C., Nguyen D.T., Saudek D.M., Brandon R.C., Fine L.D., Fritchman J.L., Fuhrmann J.L., Geoghagen N.S.M., Gnehm C.L., McDonald L.A., Small K.V., Fraser C.M., Smith H.O., Venter J.C. Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenza* Rd. *Science*. 1995; 269(5223):496–512. DOI: 10.1126/science.7542800.
  14. Goffeau A., Barrell B.G., Bussey H., Davis R.W., Dujon B., Feldmann H., Galibert F., Hoheisel J.D., Jacq C., Johnston M., Louis E.J., Mewes H.W., Murakami Y., Philippsen P., Tettelin H., Oliver S.G. Life with 6000 genes. *Science*. 1996; 274(5287):546–67. DOI: 10.1126/science.274.5287.546.
  15. Blattner F.R., Plunkett G. 3rd, Bloch C.A., Perna N.T., Burland V., Riley M., Collado-Vides J., Glasner J.D., Rode C.K., Mayhew G.F., Gregor J., Davis N.W., Kirkpatrick H.A., Goeden M.A., Rose D.J., Mau B., Shao Y. The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science*. 1997; 277(5331):1453–62. DOI: 10.1126/science.277.5331.1453.
  16. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001; 409:860–921. DOI: 10.1038/35057062.
  17. Computational Pan-Genomics Consortium. Computational pan-genomics: status, promises and challenges. *Brief. Bioinform.* 2018; 19(1):118–135. DOI: 10.1093/bib/bbw089.
  18. Tettelin H., Medini D., editors. *The Pangenome: Diversity, Dynamics and Evolution of Genomes*. Cham, Switzerland: Springer Nature; 2020. 307 p. DOI: 10.1007/978-3-030-38281-0.
  19. Pizza M., Scarlato V., Massignani V., Giuliani M.V., Aricò B., Comanducci M., Jennings G.T., Baldi L., Bartolini E., Capocchi B., Galeotti G.L., Luzzi E., Manetti R., Marchetti E., Mora M., Nuti S., Ratti G., Santini L., Savino S., Scarselli M., Storni E., Zuo P., Broeker M., Hundt E., Knapp B., Blair E., Mason T., Tettelin H., Hood D.W., Jeffries A.C., Saunders N.J., Granoff D.M., Venter J.C., Moxon E.R., Grandi G., Rappuoli R. Identification of vaccine candidates against serogroup B meningococcus by whole-genome sequencing. *Science*. 2000; 287(5459):1816–20. DOI: 10.1126/science.287.5459.1816.
  20. Tettelin H., Saunders N.J., Heidelberg J., Jeffries A.C., Nelson K.E., Eisen J.E., Ketchum K.A., Hood D.W., Peden J.F., Dodson R.J., Nelson W.C., Gwinn M.L., DeBoy R., Peterson J.D., Hickey E.K., Haft D.H., Salzberg S.L., White O., Fleischmann R.D., Dougherty B.A., Mason T., Ciecko A., Parksey D.S., Blair E., Citton H., Clark E.B., Cotton M.D., Utterback T.R., Khouri H., Qin H., Vamathevan J., Gill J., Scarlato V., Massignani V., Pizza M., Grandi G., Sun L., Smith H.O., Fraser C.M., Moxon E.R., Rappuoli R., Venter J.C. Complete genome sequence of *Neisseria meningitidis* serogroup B strain MC58. *Science*. 2000; 287(5459):1809–15. DOI: 10.1126/science.287.5459.1809.
  21. Snipen L., Ussery D.W. Standard operating procedure for computing pangenome trees. *Stand. Genomic. Sci.* 2010; 2(1):135–41. DOI: 10.4056/sigs.38923.
  22. Kaas R.S., Friis C., Ussery D.W., Aarestrup F.M. Estimating variation within the genes and inferring the phylogeny of 186 sequenced diverse *Escherichia coli* genomes. *BMC Genomics*. 2012; 13:577. DOI: 10.1186/1471-2164-13-577.
  23. Mosquera-Rendón J., Rada-Bravo A.M., Cárdenas-Brito S., Corredor M., Restrepo-Pineda E., Benítez-Páez A. Pangenome-wide and molecular evolution analyses of the *Pseudomonas aeruginosa* species. *BMC Genomics*. 2016; 17:45. DOI: 10.1186/s12864-016-2364-4.
  24. Medini D., Serruto D., Parkhill J., Relman D.A., Donati C., Moxon R., Falkow S., Rappuoli R. Microbiology in the post-genomic era. *Nat. Rev. Microbiol.* 2008; 6(6):419–30. DOI: 10.1038/nrmicro1901.
  25. Vernikos G., Medini D., Riley D.R., Tettelin H. Ten years of pan-genome analyses. *Curr. Opin. Microbiol.* 2015; 23:148–54. DOI: 10.1016/j.mib.2014.11.016.
  26. Golicz A.A., Bayer P.E., Bhalla P.L., Batley J., Edwards D. Pangenomics comes of age: from bacteria to plant and animal applications. *Trends Genet.* 2020; 36(2):132–45. DOI: 10.1016/j.tig.2019.11.006.

27. Costa S.S., Guimarães L.C., Silva A., Soares S.C., Baraúna R.A. First steps in the analysis of prokaryotic pan-genomes. *Bioinform. Biol. Insights*. 2020; 14:1177932220938064. DOI: 10.1177/1177932220938064.
28. Donati C., Hiller N.L., Tettelin H., Muzzi A., Croucher N.J., Angiuoli S.V., Oggioni M., Dunning Hotopp J.C., Hu F.Z., Riley D.R., Covacci A., Mitchell T.J., Bentley S.D., Kilian M., Ehrlich G.D., Rappuoli R., Moxon E.R., Masignani V. Structure and dynamics of the pan-genome of *Streptococcus pneumoniae* and closely related species. *Genome Biol*. 2010; 11(10):R107. DOI: 10.1186/gb-2010-11-10-r107.
29. Lefebvre T., Stanhope M.J. Evolution of the core and pan-genome of *Streptococcus*: positive selection, recombination, and genome composition. *Genome Biol*. 2007; 8(5):R71. DOI: 10.1186/gb-2007-8-5-r71.
30. Hayashi K., Morooka N., Yamamoto Y., Fujita K., Isono K., Choi S., Ohtsubo E., Baba T., Wanner B.L., Mori H., Horiuchi T. Highly accurate genome sequences of *Escherichia coli* K-12 strains MG1655 and W3110. *Mol. Syst. Biol*. 2006; 2:2006.0007. DOI: 10.1038/msb4100049.
31. Gordienko E.N., Kazanov M.D., Gelfand M.S. Evolution of pan-genomes of *Escherichia coli*, *Shigella* spp., and *Salmonella enterica*. *J. Bacteriol*. 2013; 195(12):2786–92. DOI: 10.1128/jb.02285-12.
32. Zwick M.E., Joseph S.J., Didelot X., Chen P.E., Bishop-Lilly K.A., Stewart A.C., Willner K., Nolan N., Lentz S., Thomason M.K., Sozhamannan S., Mateczun A.J., Du L., Read T.D. Genomic characterization of the *Bacillus cereus* sensu lato species: backdrop to the evolution of *Bacillus anthracis*. *Genome Res*. 2012; 22(8):1512–24. DOI: 10.1101/gr.134437.111.
33. Bazinet A.L. Pan-genome and phylogeny of *Bacillus cereus* sensu lato. *BMC Evol. Biol*. 2017; 17(1):176. DOI: 10.1186/s12862-017-1020-1.
34. Keim P., Gruendike J.M., Klevytska A.M., Schupp J.M., Challacombe J., Okinaka R. The genome and variation of *Bacillus anthracis*. *Mol. Aspects. Med*. 2009; 30(6):397–405. DOI: 10.1016/j.mam.2009.08.005.
35. Mbengue M., Lo F.T., Diallo A.A., Ndiaye Y.S., Diouf M., Ndiaye M. Pan-genome analysis of Senegalese and Gambian strains of *Bacillus anthracis*. *Afr. J. Biotechnol*. 2016; 15(45):2538–46. DOI: 10.5897/AJB2016.14902.
36. Wernegreen J.J. Genome evolution in bacterial endosymbionts of insects. *Nat. Rev. Genet*. 2002; 3(11):850–61. DOI: 10.1038/nrg931.
37. Banerjee S., Hess D., Majumder P., Roy D., Das S. The Interactions of *Allium sativum* leaf agglutinin with a chaperonin group of unique receptor protein isolated from a bacterial endosymbiont of the mustard aphid. *J. Biol. Chem*. 2004; 279(22):23782–9. DOI: 10.1074/jbc.M401405200.
38. Gil R., Sabater-Muñoz B., Latorre A., Silva F.J., Moya A. Extreme genome reduction in *Buchnera* spp.: toward the minimal genome needed for symbiotic life. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2002; 99(7):4454–8. DOI: 10.1073/pnas.062067299.
39. Dunbar H.E., Wilson A.C., Ferguson N.R., Moran N.A. Aphid thermal tolerance is governed by a point mutation in bacterial symbionts. *PLoS Biol*. 2007; 5(5):e96. DOI: 10.1371/journal.pbio.0050096.
40. Garrity G., editor. *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*. Vol. 2: The Proteobacteria. Part B: The Gamma-proteobacteria. Springer Science, Business Media; 2007. P. 811–22.
41. Escobar-Páramo P., Giudicelli C., Parsot C., Denamur E. The evolutionary history of *Shigella* and enteroinvasive *Escherichia coli* revised. *J. Mol. Evol*. 2003; 57(2):140–8. DOI: 10.1007/s00239-003-2460-3.
42. Krasnov Ya.M., Popova A.Yu., Safronov V.A., Fedorov A.V., Badanin D.V., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. [Genomic diversity analysis of SARS-CoV-2 and epidemiological features of adaptation of COVID-19 agent to human population (Communication 1)]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (3):70–82. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-70-82.
43. Gong Y.N., Lee K.M., Shih S.R. Evolution and epidemiology of SARS-CoV-2 virus. *Methods Mol. Biol*. 2022; 2452:3–18. DOI: 10.1007/978-1-0716-2111-0\_1.
44. Parlikar A., Kalia K., Sinha S., Patnaik S., Sharma N., Vemuri S.G., Sharma G. Understanding genomic diversity, pan-genome, and evolution of SARS-CoV-2. *PeerJ*. 2020; 8:e9576. DOI: 10.7717/peerj.9576.
45. Chin C.S., Sorenson J., Harris J.B., Robins W.P., Charles R.C., Jean-Charles R.R., Bullard J., Webster D.R., Kasarskis A., Peluso P., Paxinos E.E., Yamaichi Y., Calderwood S.D., Mekalanos J.J., Schadt E.E., Waldor M.K. The origin of the Haitian cholera outbreak strain. *N. Engl. J. Med*. 2011; 364(1):33–42. DOI: 10.1056/NEJMoa1012928.
46. Hasan N.A., Choi S.Y., Eppinger M., Clark P.W., Chen A., Alam M., Haley B.J., Taviani E., Hine E., Su Q., Tallon L.J., Prosper J.B., Furth K., Hoq M.M., Li H., Fraser-Liggett C.M., Cravioto A., Huq A., Ravel J., Cebula T.A., Colwell R.R. Genomic diversity of 2010 Haitian cholera outbreak strains. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2012; 109(29):E2010-7. DOI: 10.1073/pnas.1207359109.
47. Kim E.J., Lee D., Moon S.H., Lee C.H., Kim S.J., Lee J.H., Kim J.O., Song M., Das B., Clemens J.D., Pape J.W., Nair G.B., Kim D.W. Molecular insights into the evolutionary pathway of *Vibrio cholerae* O1 atypical El Tor variants. *PLoS Pathog*. 2014; 10(9):e1004384. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004384.
48. Mateo-Estrada V., Fernández-Vázquez J.L., Moreno-Manjón J., Hernández-González I.L., Rodríguez-Noriega E., Morfin-Otero R., Alcántar-Curiel M.D., Castillo-Ramírez S. Accessory genomic epidemiology of cocirculating *Acinetobacter baumannii* clones. *mSystems*. 2021; 6(4):e0062621. DOI: 10.1128/mSystems.00626-21.
49. Castillo-Ramírez S. Beyond microbial core genomic epidemiology: towards pan genomic epidemiology. *Lancet Microbe*. 2022; 3(4):e244–e245. DOI: 10.1016/S2666-5247(22)00058-1.
50. Mora M., Donati C., Medini D., Covacci A., Rappuoli R. Microbial genomes and vaccine design: refinements to the classical reverse vaccinology approach. *Curr. Opin. Microbiol*. 2006; 9(5):532–6. DOI: 10.1016/j.mib.2006.07.003.
51. Donati C., Medini D., Rappuoli R. Pangenomic reverse vaccinology. In: Sintchenko V., editor. *Infectious Disease Informatics*. Springer, New York; 2010. P. 203–22. DOI: 10.1007/978-1-4419-1327-2\_10.
52. Budroni S., Siena E., Dunning Hotopp J.C., Seib K.L., Serruto D., Nofroni C., Comanducci M., Riley D.R., Daugherty S.C., Angiuoli S.V., Covacci A., Pizza M., Rappuoli R., Moxon E.R., Tettelin H., Medini D. *Neisseria meningitidis* is structured in clades associated with restriction modification systems that modulate homologous recombination. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2011; 108(11):4494–9. DOI: 10.1073/pnas.1019751108.
53. Ribas-Aparicio R.M., Castela-Vega J.A., Jiménez-Alberto A., Monterrubio-López G.P., Aparicio-Ozores G. The impact of bioinformatics on vaccine design and development. In: Afrin F., Hemeg H., Ozbak H., editors. *Vaccines*. InTech; 2017. P. 123–45. DOI: 10.5772/intechopen.69273.
54. Rappuoli R., De Gregorio E., Del Giudice G., Phogat S., Pecetta S., Pizza M., Hanon E. Vaccinology in the post-COVID-19 era. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2021; 118(3):e2020368118. DOI: 10.1073/pnas.2020368118.
55. Masignani V., Pizza M., Moxon E.R. The development of a vaccine against meningococcus B using reverse vaccinology. *Front. Immunol*. 2019; 10:751. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00751.
56. Pizza M., Scarlato V., Masignani V., Giuliani M.M., Arico B., Comanducci M., Jennings G.T., Baldi L., Bartolini E., Capecci B., Galeotti C.L., Luzzi E., Manetti R., Marchetti E., Mora M., Nuti S., Ratti G., Santini L., Savino S., Scarselli M., Storni E., Zuo P., Broecker M., Hundt E., Knapp B., Blair E., Mason T., Tettelin H., Hood D.W., Jeffries A.C., Saunders N.J., Granoff D.M., Venter J.C., Moxon E.R., Grandi G., Rappuoli R. Identification of vaccine candidates against serogroup B meningococcus by whole-genome sequencing. *Science*. 2000; 287(5459):1816–20. DOI: 10.1126/science.287.5459.1816.
57. Dyatlova V.I. [Application of reverse vaccinology methods for developing new vaccines against brucellosis]. *Bakteriologiya [Bacteriology]*. 2021; 6(4):16–29. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-4-16-29.
58. Vishnu U.S., Sankarasubramanian J., Gunasekaran P., Rajendhran J. Novel vaccine candidates against *Brucella melitensis* identified through reverse vaccinology approach. *OMICS*. 2015; 9(11):722–9. DOI: 10.1089/omi.2015.0105.
59. Gomez G., Pei J., Mwangi W., Adams L.G., Rice-Ficht A., Ficht T.A. Immunogenic and invasive properties of *Brucella melitensis* 16M outer membrane protein vaccine candidates identified via a reverse vaccinology approach. *PLoS One*. 2013; 8(3):e59751. DOI: 10.1371/journal.pone.0059751.
60. Hisham Y., Ashhab Y. Identification of cross-protective potential antigens against pathogenic *Brucella* spp. through combining pan-genome analysis with reverse vaccinology. *J. Immunol. Res*. 2018; 2018:1474517. DOI: 10.1155/2018/1474517.

#### Authors:

Agafonova E.Yu. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

#### Об авторах:

Агафонова Е.Ю. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.