

Медицинская палеомикробиология: проблемы и перспективы

*А. Е. ГОНЧАРОВ^{1,2,3}, В. В. КОЛОДЖИЕВА²

¹ ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Российская Федерация

³ ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Medical Paleomicrobiology: Problems and Prospects

*ARTEMY E. GONCHAROV^{1,2,3}, VIKTORIA V. KOLODZHIEVA²

¹ Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russian Federation

² North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russian Federation

³ Saint Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russian Federation

Резюме

Изучение микробной ДНК из палеонтологических и археологических образцов является мощным инструментом, позволяющим получить исчерпывающую информацию о молекулярной эволюции геномов возбудителей инфекционных заболеваний человека. Статья представляет собой ретроспективу наиболее значимых достижений медицинской палеомикробиологии. Предметом обсуждения являются результаты исследований по изучению генетического разнообразия древних микробиомов, содержащих детерминанты патогенности и антибиотикорезистентности. Перспективными представляются палеомикробиологические исследования многолетней мерзлоты как репозитория патогенной микробиоты.

Ключевые слова: палеомикробиология; высокопроизводительное секвенирование; древняя ДНК; эволюция; возбудители инфекционных заболеваний, микробиом; многолетняя мерзлота.

Для цитирования: Гончаров А.Е., Колоджиева В.В. Медицинская палеомикробиология: проблемы и перспективы. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66 (5–6): 72–77 doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-72-77.

Abstract

The study of microbial DNA from paleontological and archaeological samples is a powerful tool for estimating the molecular evolution of human pathogens. The paper is a retrospective review of the most significant achievements in medical paleomicrobiology. The subject of the discussion is the genetic diversity of ancient microbiomes including pathogenicity and antibiotic resistance genes. Paleomicrobiological studies of permafrost as a repository of pathogenic microbiota are highly promising.

Keywords: paleomicrobiology; high throughput sequencing; ancient DNA; evolution; pathogens; microbiome; permafrost.

For citation: Goncharov A. E., Kolodzhieva V. V. Medical paleomicrobiology: problems and prospects. *Antibiot i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66 (5–6): 72–77. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-5-6-72-77.

Введение

Развитие методов изучения генетического материала микроорганизмов, получаемого из геологических, палеонтологических или археологических образцов, привело в последние десятилетия к бурному росту исследований в области палеомикробиологии. Использование в филогенетических построениях последовательностей «древней» микробной ДНК, выделенной из материала известного абсолютного возраста, позволяет оценивать фактические скорости молеку-

лярной эволюции геномов отдельных таксонов, реконструировать эволюционные события, приводящие к существенным изменениям в экологии различных видов прокариот, включая их переход к паразитизму, изучать закономерности формирования их эпидемического потенциала. Революционная работа Дидье Рауля и его коллег (1998) [1], в которой впервые были получены доказательства длительного сохранения ДНК патогенных микроорганизмов в останках людей из исторических захоронений и предложен метод её выделения из пульпы зубов, по сути, открыла ме-

© Коллектив авторов, 2021

*Адрес для корреспонденции: ул. Академика Павлова, 12, ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, г. Санкт-Петербург, 197376. E-mail: phage1@yandex.ru

© Team of Authors, 2021

*Correspondence to: 12 Academician Pavlov str., Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, 197376 Russian Federation. E-mail: phage1@yandex.ru

дицинским микробиологам и эпидемиологам возможность изучения эпидемий прошлого. С момента публикации данного исследования существенно усовершенствованы технологии экстракции древней ДНК [2], предложен ряд методологических подходов к сборке и изучению геномов палеомикроорганизмов [3], разработаны критерии доказательств аутентичности, изучаемой ДНК [4–6].

В тоже время очевидна необходимость в осмыслении накопленных палеомикробиологическими исследованиями фактических данных и определении основных тенденций развития данного направления медицинской микробиологии.

По нашему мнению, сегодня двумя основными точками приложения медицинской палеомикробиологии являются:

1. Установление происхождения эпидемических клонов и реконструкция эволюции патогенных микроорганизмов;

2. Изучение древних микробиомов как хранилищ генов факторов патогенности и устойчивости к современным антибактериальным препаратам, а также источников жизнеспособных микроорганизмов, имеющих медицинское и биотехнологическое значение.

Ниже мы рассматриваем эти направления палеомикробиологических исследований.

Изучение эволюции патогенных микроорганизмов

ДНК патогенных микроорганизмов, способна сохраняться в пульпе зубов или костных останках тысячи лет, начиная как минимум с периода неолита, однако возраст находок существенно различается для различных патогенов (таблица).

Использование методов высокопроизводительного секвенирования и микрочиповых технологий при изучении древней микробной ДНК позволило выявить значительные события в филогеографии и эволюции возбудителей инфекционных заболеваний.

Ряд исследований был проведён в области «молекулярной археологии» возбудителей туберкулёза [23, 24], лепры [25], сифилиса [26], кариеса зубов [27].

Наиболее впечатляющие успехи были получены при изучении возбудителя чумы в связи с наличием в европейских странах точно датированных массовых захоронений людей, погибших в ходе пандемии «чёрной смерти» [28], при этом было выяснено, что пандемия была вызвана несколькими клонами [29], а также обосновано предположение, что локальные эпидемические вспышки в Европе в период «чёрной смерти» являлись следствием независимых заносов эпидемических штаммов *Yersinia pestis* [30].

Основываясь на анализе SNP в геномах данных штаммов, а также геноме штамма, вызвавшего «Юстинианову» чуму [31], было построено филогенетическое дерево, отражающее эволюцию *Y.pestis* в древности и средневековье. Секвенирование с высоким покрытием генома возбудителя «юстиниановой чумы» VI века н. э. позволило выявить ряд несинонимичных замен и инделов в генах, ассоциированных с реализацией *Y.pestis* патогенного потенциала [32].

Чрезвычайно интересными и важными с практических позиций представляются исследования, вскрывающие процесс формирования у возбудителя инфекционного заболевания механизма передачи. Так, например, изучение ДНК штаммов *Y.pestis*, ассоциированных с населением Евразии периода бронзового века, показало отсутствие гена *ymt* в геномах всех штаммов, циркулировавших ранее 1686 года до н. э. [33]. Продукт данного гена — фосфолипаза D — обеспечивает выживание иерсиний в организме блох. Кроме того, в упомянутых выше древних геномах присутствовали интактные гены *pde2*, *pde3* и *rcaA*, которые обычно делетированы или выключены у штаммов, способных к эффективной трансмиссивной передаче.

Таким образом, судя по изученным геномам, для возбудителя чумы бронзового века трансмиссивный механизм передачи не был характерен. Приспособление к организму переносчика инфекции и, соответственно, становление трансмиссивного механизма передачи у *Y.pestis* произошло вследствие приобретения *ymt* — локуса путём горизонтального переноса генов, о чём свидетельствует обнаружение транспозаз, фланкирующих участок генома с геном *ymt* в геномах более позднего времени.

Другой пример исследования, вскрывающего механизмы формирования патогенного и эпидемического потенциала вида, относится к эволюции вируса натуральной оспы. Изучение геномов древних штаммов поксвирусов, циркулировавших в Северной Европе в эпоху экспансии викингов, показало, что, вероятнее всего, натуральная оспа в этот период не являлась смертельным заболеванием. Однако в течение последующих 1000 лет адаптация вируса к паразитированию в организме человека проявлялась увеличением контагиозности и вирулентности, что сопровождалось потерей части генов, регулирующих иммунный ответ [34]. Таким образом, вирус натуральной оспы представляет собой пример возбудителя, который, в отличие от ряда других патогенов, интродуцированных в человеческое общество, увеличивал свой патогенный и эпидемический потенциал.

Приведённые выше примеры палеомикробиологических исследований, описывающих

Наиболее древние находки возбудителей инфекционных и паразитарных заболеваний в археологическом материале
The most ancient pathogens of infectious and parasitic diseases found in archaeological material

Микроорганизм	Вызываемое заболевание	Используемый метод детекции	Датировка материала	Источник выделения ДНК	Источник
Бактериальные патогены					
<i>Borrelia recurrentis</i>	Возвратный тиф	ПЦР, метагеномный анализ	XV век	Пульпа зубов	7
<i>Bartonella quintana</i>	Болезнь кошачьей царапины	Гнездовой (nested) ПЦР	~2100–2200 до н. э.	Пульпа зубов	8
<i>Brucella melitensis</i>	Бруцеллёз	Метагеномный анализ методом «дробовика»	XIV век	Кальцификат в костях таза	9
<i>Helicobacter pylori</i>	Язвенная болезнь желудка, рак желудка	Метагеномный анализ методом «дробовика»	~5300 лет (Бронзовый век)	Мумифицированные останки «пирольского ледяного человека»	10
<i>Mycobacterium leprae</i>	Проказа	ПЦР	VII век н. э.	Костные останки	11
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Туберкулёз	ПЦР	9250–8160 лет	Костные останки	12
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>Enterica</i> serovar Paratyphi C	Парагриф	Метагеномный анализ методом «дробовика»	1200±50 лет	Пульпа зубов	13
<i>Treponema pallidum</i>	Сифилис	Метод гибридизационного захвата ДНК в сочетании с высокопроизводительным секвенированием	XVII век н. э.	Костные останки	14
<i>Vibrio cholerae</i>	Холера	Метагеномный анализ методом «дробовика»	1849 г	Музейный препарат тонкого кишечника	15
<i>Yersinia pestis</i>	Чума	Метагеномный анализ методом «дробовика»	~3800 лет	Пульпа зубов	16
Вирусные патогены					
Вирус гепатита В	Вирусный гепатит В	Метагеномный анализ, ПЦР	4,488	Пульпа зубов	17
Вирус гриппа	Грипп	RT-ПЦР	1918	Лёгкие мерзлой мумии жертвы «испанского гриппа»	18
Вирус натуральной оспы	Оспа	Метагеномный анализ методом «дробовика»	VII век н.э.	Пульпа зубов	19
Возбудители паразитарных инвазий					
<i>Plasmodium falciparum</i>	Малярия	Гнездовая (nested) ПЦР	~4,000 лет	Костные останки	20
<i>Trypanosoma cruzi</i>	Болезнь Шагаса	Гнездовая (nested) ПЦР	9000 лет	Ткани мумии	21
<i>Toxascaris leonina</i>	Токсокароз	ПЦР, секвенирование митохондриальной ДНК	16 573–17 002 до н. э.	Копролиты пумы (Puma concolor)	22

изменения патогенных свойств возбудителя за исторический период, важны, по нашему мнению, в связи с тем, что они характеризуют скорость и направление молекулярной эволюции у различных групп патогенных микроорганизмов, а выявленные закономерности могут быть использованы при анализе причин появления современных эмерджентных патогенов.

Древние микробиомы — источник детерминант патогенности и резистентности к антимикробным препаратам

Большой массив палеомикробиологических исследований посвящён изучению древних микробных сообществ в их естественной среде обитания. Наибольшую степень сохранности жизнеспособных микроорганизмов и их ДНК обеспечивают холодные (криогенные) местообитания, наземные и подводные. Недавно опубликованные данные о микробных сообществах в районе Южно-Тихоокеанского круговорота, позволяют предположить персистенцию аэробных бактерий в холодных придонных океанских осадках на протяжении более чем 101 млн лет [35]. По-видимому, древнейшие сохранившиеся наземные микробные сообщества, датируемые периодом миоцена (около 3 млн лет) обнаружены в многолет-

ней мерзлоте Антарктиды [36] и Арктики [37].

Многолетняя мерзлота является крупнейшим естественным резервуаром древних прокариот и вирусов.

Вытаивание из неё жизнеспособных патогенных микроорганизмов и их ДНК вследствие климатических изменений создаёт реальные, а не гипотетические угрозы возникновения эпидемических вспышек, пример чему является эпидемия сибирской язвы на полуострове Ямал в 2016 г. [38]. Возможность реактивации древних патогенов определяется также тем, что в многолетней мерзлоте законсервированы останки людей и туши животных, являющихся средой обитания этих микроорганизмов. Микробные сообщества, ассоциированные с плейстоценовой фауной Восточной Сибири, описаны в нескольких исследованиях, причём в их составе обнаруживаются как комменсальные микроорганизмы [39, 40], так и патогены, в частности *Bacillus anthracis*. В августе 2015 г. в Якутии были найдены мёрзлые мумии двух детенышей пещерного льва (*Panthera leo spelaea*), датированные периодом начала голоцена (около 10 000 лет) из тканей которых и окружающего их грунта были выделены сибирязвенные бациллы [41]. Проведённый анализ SNP в полном геноме одного из выделенных штаммов, показал его тесную филогенетическую связь со штаммами, выделенными при вспышке сибирской язвы на Ямале в 2016 г., что является аргументом в пользу древности генетической линии, к которой относятся ямальские штаммы.

Следует отметить также присутствие хорошо сохранившегося генетического материала патогенных микроорганизмов в составе микробиомов останков людей, законсервированных в течение сотен и даже тысяч лет во льду и вечной мерзлоте. В частности, подобные находки включают в себя ДНК *Mycobacterium tuberculosis* [42] и вируса оспы [43] в мумиях 16–19 веков.

Метагеномные исследования образцов многолетней мерзлоты свидетельствуют также о том, что данный биом содержит гигантский пул генов, обеспечивающих устойчивость бактерий к антимикробным препаратам, при этом обсуждается вопрос мобилизации древних генов антибиотикорезистентности как следствие потепления климата [44]. Данный резистом формировался путём накопления генов антибиотикорезистентности в течение длительного времени, имеются, в частности, свидетельства об обнаружении детерминант устойчивости к гликопептидам (включая идентичный современному транспозону устойчивости к ванкомицину VanA), тетрациклинам, бета-лактамам в 30000-летней мерзлоте Берингии [45]

Возможность эффективной передачи древних генов антибиотикорезистентности современным

бактериям определяется тем, что данные гены ассоциированы с мобильными генетическими элементами. Так, например, описан мультиантибиотикорезистентный штамм *Pseudomonas* sp. Tik-3, выделенный из многолетней мерзлоты плейстоценового периода. Показано, что геном этого штамма содержит комплексный интегрон-содержащий транспозон Tn5045, содержащий детерминанты устойчивости к стрептомицину/спектиномицину и сульфаниламидам [46]. В образце плейстоценовой мерзлоты идентифицирован также штамм *Psychrobacter psychrophilus*, несущий плазмиду резистентности *pKLN80* включающую ген бета-лактамазы *bla-RTG6*. Возможность её репликации в современных клинических штаммах *Acinetobacter* доказана экспериментально [47].

Метагеномные исследования последних лет показывают, что горизонтальный генетический обмен в микробиомах полярных областей планеты может происходить с не меньшей интенсивностью, чем в умеренных и тропических широтах. Так, например, разнообразие ассоциируемых с горизонтальным переносом генов мобильных генетических элементов (фагов, транспозонов и плазмид) в мёрзлых почвах Арктики (Шпицберген) оказывается даже более выраженным, чем в почвах тропических джунглей [48].

Таким образом, микробиом полярных экосистем сам по себе может рассматриваться в качестве одного из наиболее значимых источников генетического разнообразия прокариот. Накопленные к настоящему моменту данные позволяют поставить вопрос о необходимости масштабных исследований по изучению мобилома (совокупности мобильных элементов) древних микроорганизмов, обитающих в вечной мерзлоте.

Подобные исследования становятся всё более актуальными в связи с необходимостью оценки биологических угроз, возникающих вследствие драматического потепления климата в полярных регионах.

Заключение

Медицинская палеомикробиология как инструмент получения достоверной информации о молекулярной эволюции геномов возбудителей инфекционных заболеваний человека приобретает всё большую значимость. Понимание закономерностей формирования эпидемического потенциала у различных групп микроорганизмов является важным элементом при анализе причин появления новых эмерджентных патогенов.

Палеомикробиологические исследования криосферы Земли в качестве резервуара патогенной микробиоты, древних генов вирулентности и детерминант антибиотикорезистентности являются чрезвычайно востребованными в связи

с активной деятельностью человека в полярных регионах планеты на фоне быстро меняющегося климата.

Литература/References

1. Drancourt M., Aboudharam G., Signoli M., Dutour O., Raoult D. Detection of 400-year-old *Yersinia pestis* DNA in human dental pulp: an approach to the diagnosis of ancient septicemia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998; 95: 12637–40.
2. Tran-Hung L., Tran-Thi N., Aboudharam G., Raoult D., Drancourt M. A new method to extract dental pulp DNA: application to universal detection of bacteria. *PLoS One*, 2007; 2 (10), e1062.
3. Spyrou M. A., Bos K. I., Herbig A., Krause J. Ancient pathogen genomics as an emerging tool for infectious disease research. *Nat Rev Gen*. 2019; 20(6), 323–340.
4. Warinner C., Herbig A., Mann A., Fellows Yates J. A., Weiß C. L., Burbano H. A., Krause J. A robust framework for microbial archaeology. *Ann Rev Gen Human Gen*. 2017; 18, 321–356.
5. Hebsgaard M. B., Phillips M. J., Willerslev E. Geologically ancient DNA: fact or artefact? *Trends in Microbial*. 2005; 13 (5): 212–220.
6. Key F. M., Posth C., Krause J., Herbig A., Bos K. I. Mining metagenomic data sets for ancient DNA: recommended protocols for authentication. *Trends in Gen*. 2017; 33(8): 508–520.
7. Guellil M., Kersten O., Namouchi A., Bauer E. L., Derrick M., Jensen A. Ø., Bramanti B. Genomic blueprint of a relapsing fever pathogen in 15th century Scandinavia. *Proc Nat Acad Sci*. 2018; 115 (41): 10422–10427.
8. Drancourt M., Tran-Hung L., Courtin J., Lumley H. D., Raoult D. *Bartonella quintana* in a 4000-year-old human tooth. *J Infect Dis*. 2005; 191 (4), 607–611.
9. Kay G. L., Sergeant M. J., Giuffra V., Bandiera P., Milanese M., Bramanti B., Pallen M. J. Recovery of a medieval *Brucella melitensis* genome using shotgun metagenomics. *MBio*. 2014; 5 (4).
10. Maixner F., Krause-Kyora B., Turaev D., Herbig A., Hoopmann M. R., Halouss J. L., O'Sullivan N. The 5300-year-old *Helicobacter pylori* genome of the Iceman. *Science*. 2016; 351 (6269): 162–165.
11. Rafi A., Spiegelman M., Stanford J., Lemma E., Donoghue H., Zias J. *Mycobacterium leprae* DNA from ancient bone detected by PCR. *The Lancet*. 1994; 343 (8909): 1360–1361.
12. Hershkovitz I., Donoghue H.D., Minnikin D.E., Besra G.S., Lee O-Y., Gernaev A.M., Galili E., Eshed V., Greenblatt C.L., Lemma E., Bar-Gal G.K., Spiegelman M. Detection and molecular characterization of 9,000-year-old *Mycobacterium tuberculosis* from a Neolithic settlement in the Eastern Mediterranean. *PLoS One*. 2008; 3: e3426. doi: 10.1371/journal.pone.0003426.
13. Zhou Z., Lundström I., Tran-Dien A. et al. Pan-genome Analysis of Ancient and Modern *Salmonella enterica* Demonstrates Genomic Stability of the Invasive Para C. Lineage for Millennia. *Curr Biol*. 2018; 28 (15): 2420–2428. e10. doi: 10.1016/j.cub.2018.05.058.
14. Schuenemann V. J., Kumar Lankapalli A., Barquera R., Nelson E. A., Iraiz Hernández, D., Acuña Alonzo, V., Krause J. Historic *Treponema pallidum* genomes from Colonial Mexico retrieved from archaeological remains. *PLoS Neglected Trop Dis*. 2018; 12 (6): e0006447.
15. Devault A.M. et al. Second-pandemic strain of *Vibrio cholerae* from the Philadelphia cholera outbreak of 1849. *N Engl J Med*. 2014; 370: 334–340. doi: 10.1056/NEJMoal308663.
16. Spyrou M.A., Tikhonova R.I., Wang C. et al. Analysis of 3800-year-old *Yersinia pestis* genomes suggests Bronze Age origin for bubonic plague. *Nat Commun*. 2018; 9 (2234): doi: 10.1038/s41467-018-04550-9.
17. Mühlemann B., Jones T.C., Damgaard P. et al. Ancient hepatitis B viruses from the Bronze Age to the Medieval period. *Nature*. 2018; 557: 418–423. doi: 10.1038/s41586-018-0097-z.
18. Taubenberger J., Reid A., Lourens R., Wang R., Jin G., Fanning T. Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes. *Nature*. 2005; 437 (7060): 889–893. doi:10.1038/nature04230.
19. Mühlemann B., Vinner L., Margaryan A., Wilhelmson H., de la Fuente Castro C., Allentoft M. E., Bill J. Diverse variola virus (smallpox) strains were widespread in northern Europe in the Viking Age. *Science*. 2020; 369 (6502).
20. Aufderheide A. C., Salo W., Madden M., Streitz J., Buikstra J., Guhl E, Arriaza B., Renier C., Wittmers L. E., Jr., Fornaciari G., Allison M. A 9,000-year record of Chagas' disease. *Proc Nat Acad Sci United States of America*. 2004; 101: 2034–2039.
21. Nerlich A. G., Schraut B., Dittrich S., Jelinek T., Zink A. R. *Plasmodium falciparum* in Ancient Egypt. *Emerg Infect Dis*. 2008; 14: 1317–1319.
22. Petri R. S., Martínez J. G., Mondini M., Fugassa, M. H. Ancient parasitic DNA reveals *Toxascaris leonina* presence in Final Pleistocene of South America. *Parasitology* 2019; 146 (10): 1284–1288.
23. Taylor G.M., Crosse J., Saldanha J., Waldron T. *Mycobacterium tuberculosis* identified in mediaeval human skeletal remains using polymerase chain reaction. *J Archaeol Sci*. 1996; 23: 789–798.

Благодарности. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-115-50417

24. Rothschild B.M., Martin L.D., Lev G., Bercovier H., Bar-Gal G.K. et al. *Mycobacterium tuberculosis* complex DNA from an extinct bison dated 17,000 years before the present. *Clin Infect Dis*. 2001; 33: 305–311.
25. Schuenemann V. J., Avanzi C., Krause-Kyora B., Seitz A., Herbig A., Inskip S., Taylor G. M. Ancient genomes reveal a high diversity of *Mycobacterium leprae* in medieval Europe. *PLoS pathogens*. 2018; 14 (5): e1006997.
26. Kolman C. J., Centurion-Lara A., Lukehart S. A., Owsley D. W., Tuross N. Identification of *Treponema pallidum* subspecies pallidum in a 200-year-old skeletal specimen. *Infect Dis*. 1999;180(6): 2060–2063.
27. Simón M., Montiel R., Smerling A., Solórzano E., Díaz N., Álvarez-Sandoval B. A., Malgosa, A. Molecular analysis of ancient caries. *Proc Royal Society B: Biol Sci*. 2014; 281 (1790): 20140586.
28. Bos K. I., Schuenemann V.J., Golding G. B., Burbano H. A., Waglechner N., Coombes, B. K., Wood J. A draft genome of *Yersinia pestis* from victims of the Black Death. *Nature*. 2011; 478 (7370): 506–510.
29. Haensch S., Bianucci R., Signoli M., Rajerison M., Schultz M., Kacki S., Carniel E. Distinct clones of *Yersinia pestis* caused the black death. *PLoS Pathog*. 2010; 6 (10): e1001134.
30. Namouchi A., Guellil M., Kersten O., Hänsch S., Ottoni C., Schmid B. V., Derrick M. Integrative approach using *Yersinia pestis* genomes to revisit the historical landscape of plague during the Medieval Period. *Proc Nat Acad Sci*. 2018; 115 (50): E11790-E11797. doi: 10.1073/pnas.1812865115.
31. Harbeck M., Seifert L., Hänsch S., Wagner D. M., Birdsell D., Parise K. L., Zöller L. *Yersinia pestis* DNA from skeletal remains from the 6th century AD reveals insights into Justinianic Plague. *PLoS Pathogens*. 2013; 9 (5): e1003349.
32. Feldman, M., Harbeck, M., Keller, M., Spyrou, M. A., Rott, A., Trautmann, B., Bos K. A high-coverage *Yersinia pestis* genome from a sixth-century Justinianic plague victim. *Molecular biology and evolution*, 2016: 33 (11); 2911–2923.
33. Rasmussen S., Allentoft M., Nielsen K., Orlando L., Sikora M., Pedersen A., Epimakhov A. Early divergent strains of *Yersinia pestis* in Eurasia 5,000 years ago. *Cell*. 2015; 163 (3): 571–582.
34. Alcamí A. Was smallpox a widespread mild disease? *Science*. 2020; 369 (6502): 376–377. doi: 10.1126/science.abd1214.
35. Morono Y., Ito M., Hoshino T. et al. Aerobic microbial life persists in oxic marine sediment as old as 101.5 million years. *Nat Commun*. 2020; 11: 3626. doi: 10.1038/s41467-020-17330-1.
36. Gilichinsky D. A., Wilson G. S., Friedmann E. I., McKay C. P., Sletten R. S., Rivkina E. M., Shcherbakova V. A. Microbial populations in Antarctic permafrost: biodiversity, state, age, and implication for astrobiology. *Astrobiology*. 2007; 7 (2): 275–311.
37. Vishnietskaya T. A., Kathariou S. Putative transposases conserved in *Exiguobacterium* isolates from ancient Siberian permafrost and from contemporary surface habitats. *App Envir Microbiol*. 2005; 71 (11): 6954–6962.
38. Hueffer K., Drown D., Romanovsky V., Hennessy T. Factors Contributing to Anthrax Outbreaks in the Circumpolar North. *Ecohealth*. 2020; 17 (1): 174–180. doi:10.1007/s10393-020-01474-z.
39. Grigoriev S.E., Fisher D.C., Obadā T., Shirley E.A., Rountrey A.N., Savvinov G.N., Garmaeva D.K., Novgorodov G.P., Cheprasov M.Y., Vasilev S.E., Goncharov A.E., Masharskiy A., Egorova V.E., Petrova P.P., Egorova E.E., Akhremenko Ya.A., van der Plicht J., Galanin A.A., Fedorov S.E., Ivanov E.V., Tikhonov A.N. A woolly mammoth (*Mammuthus primigenius*) carcass from Maly Lyakhovskiy Island (New Siberian Islands, Russian Federation). *Quaternary Int*. 2017; 445: 89–103.
40. Goncharov A., Grigorjev S., Karaseva A. et al. Draft Genome Sequence of *Enterococcus faecium* Strain 58m. Isolated from Intestinal Tract Content of a Woolly Mammoth, *Mammuthus primigenius*. *Genome Announc*. 2016; 4(1): e01706-15. Published 2016 Feb 11. doi:10.1128/genomeA.01706-15.
41. Timofeev V., Bahtejeva I., Mironova R. et al. Insights from *Bacillus anthracis* strains isolated from permafrost in the tundra zone of Russia. *PLoS One*. 2019; 14 (5): e0209140. Published 2019 May 22. doi:10.1371/journal.pone.0209140.
42. Dabernat H., Thèves C., Bouakaze C., Nikolaeva D., Keyser C., Mokrousov I., Gérard A., Duchesne S., Gérard P., Alexeev A.N., Crubézy E., Ludes B. Crubézy E. Tuberculosis epidemiology and selection in an autochthonous Siberian population from the 16th-19th century. *PLoS One*. 2014; 9b (2): e89877. doi: 10.1371/journal.pone.0089877.
43. Biagini P., Thèves C., Balaesque P. et al. Variola virus in a 300-year-old Siberian mummy. *N Engl J Med*. 2012; 367 (21): 2057–2059. doi:10.1056/NEJMc1208124.
44. Sajjad W., Rafiq M., Din G., et al. Resurrection of inactive microbes and resistome present in the natural frozen world: Reality or myth? [published correction appears in *Sci Total Environ*. *Sci Total Environ*. 2020; 735: 139275. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.139275.

45. *D'Costa V. M., King C. E., Kalan L., Morar M., Sung W. W., Schwarz C., Golding G. B.* Antibiotic resistance is ancient. *Nature*. 2011; 477 (7365): 457–461.
46. *Petrova M., Gorlenko Z., Mindlin S.* Tn5045, a novel integron-containing antibiotic and chromate resistance transposon isolated from a permafrost bacterium. *Res Microbiol*. 2011; 162: 337–345.
47. *Petrova M., Kurakov A., Shcherbatova N., Mindlin S.* Genetic structure and biological properties of the first ancient multiresistance plasmid isolated from a permafrost bacterium. *Microbiology*. 2014; 160 (10): 2253–2263. doi: 10.1099/mic.0.079335-0.
48. *Kerfahi D., Tripathi B. M., Dong K., Kim M., Kim H., Slik J. E., Adams J. M.* From the high Arctic to the equator: do soil metagenomes differ according to our expectations? *Microb Ecol*. 2019; 77 (1): 168–185.

Информация об авторах

Гончаров Артемий Евгеньевич — д. м. н., заведующий лабораторией функциональной геномики и протеомики микроорганизмов ФГБНУ Институт экспериментальной медицины; профессор кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, Российская Федерация; доцент кафедры фундаментальных проблем медицины и медицинских технологий ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Колоджиева Виктория Васильевна — к. м. н., доцент кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный университет им. И. И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

About the authors

Artemy E. Goncharov — D. Sc. in medicine, Institute of Experimental Medicine, North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russian Federation

Viktoria V. Kolodzhieva — Ph. D. in medicine, North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Russian Federation