



БИОФИЗИКА И МЕДИЦИНСКАЯ ФИЗИКА

Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Физика. 2021. Т. 21, вып. 4.

С. 315–328

Izvestiya of Saratov University. Physics, 2021, vol. 21, iss. 4, pp. 315–328

<https://fizika.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1817-3020-2021-21-4-315-328>

Научная статья

УДК 577.32

Интерференция GB-спеклов в молекулярной дискриминации бактериальных патогенов: использование метода *s-LASCA* на модели *Chlamydia psittaci*

С. С. Ульянов^{1,2}✉, О. В. Ульянова¹, С. С. Зайцев²,
Ю. В. Салтыков², А. С. Ульянов³, В. А. Федорова^{1,2}

¹Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

²Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии, филиал в Саратове, Россия, 410028, г. Саратов, ул. 53-й Стрелковой дивизии, д. 6

³Люксост Дубна, Россия, 141983, г. Дубна, ул. Программистов, д. 4

Ульянов Сергей Сергеевич, доктор физико-математических наук, профессор; ¹профессор кафедры медицинской физики; ²главный научный сотрудник, prof.sergey.ulyanov@outlook.com, <https://orcid.org/0000-0003-3030-6927>

Ульянова Онега Владимировна, кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры медицинской физики, ulianovaov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4420-2408>

Зайцев Сергей Сергеевич, научный сотрудник, zaytsev-sergey@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1373-8229>

Салтыков Юрий Владимирович, научный сотрудник, saltykov3443@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8163-1979>

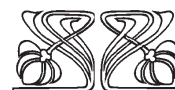
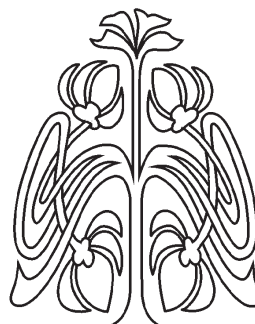
Ульянов Александр Сергеевич, кандидат физико-математических наук, ведущий системный аналитик, ulyanovas@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8458-9411>

Федорова Валентина Анатольевна, доктор медицинских наук, профессор; ¹профессор кафедры медицинской физики; ²главный научный сотрудник, директор филиала, feodorovav@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3827-407X>

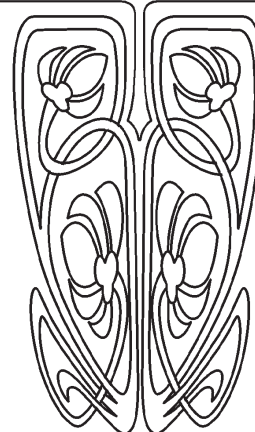
Аннотация. Продемонстрировано, как виртуальные оптические спеклы (GB-спеклы) могут быть сформированы из нуклеотидных последовательностей семи генов домашнего хозяйства *Chlamydia psittaci*. Изучены специфические особенности формирования интерференционных картин при суперпозиции как исходных GB-спеклов, так и GB-спеклов, прошедших обработку методом анализа контраста лазерных спеклов (*s-LASCA*). Показано, что контраст интерферирующих GB-спеклов может быть использован для выявления полиморфизма у нуклеотидных последовательностей бактериальных патогенов, используемых для мультилокусного типирования.

Ключевые слова: виртуальные оптические спеклы (GB-спеклы), метод анализа контраста лазерных спеклов (*s-LASCA*), биоинформатика, *Chlamydia psittaci*, мультилокусное типирование

Благодарности: Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 17-16-01099 (продление).



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ





Для цитирования: Ульянов С. С., Ульянова О. В., Зайцев С. С., Салтыков Ю. В., Ульянов А. С., Федорова В. А. Интерференция GB-спеклов в молекулярной дискриминации бактериальных патогенов: использование метода *s-LASCA* на модели *Chlamydia psittaci* // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Физика. 2021. Т. 21, вып. 4. С. 315–328. <https://doi.org/10.18500/1817-3020-2021-21-4-315-328>

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

The interference of GB-speckles in molecular discrimination of bacterial pathogens: The use of the *s-LASCA* method on the *Chlamydia psittaci* model

S. S. Ulyanov^{1,2}✉, O. V. Ulyanova¹, S. S. Zaitsev², Yu. V. Saltykov², A. S. Ulyanov³, V. A. Feodorova^{1,2}

¹Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

²Federal Research Center for Virology and Microbiology, Branch in Saratov, 6 53rd Strelkovoi Diviziji St., Saratov 410028, Russia

³Luxoft Dubna, 4 Programmistov St., Dubna 141983, Russia

Sergey S. Ulyanov, prof.sergey.ulyanov@outlook.com, <https://orcid.org/0000-0003-4420-2408>

Onega V. Ulianova, ulianovaov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3030-6927>

Sergey S. Zaitsev, zaitsev-sergey@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1373-8229>

Yury V. Saltykov, saltykov3443@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8163-1979>

Alexander S. Ulyanov, ulyanovas@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8458-9411>

Valentina A. Feodorova, feodorovav@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3827-407X>

Abstract. Background and Objectives: In the article it has been demonstrated how virtual optical speckles may be generated from the nucleotide sequences of 7 housekeeping genes of *Chlamydia psittaci*. Such speckles are called as GB- speckles (gene-based speckles). In the article specific features of the formation of interference patterns have been studied with the superposition, as raw GB-speckle and GB-speckle, processed by the *s-LASCA* method (Laser Speckle Contrast Analysis). It has been shown, that the contrast of interfering GB-speckles may be used to identify the presence of polymorphism in nucleotide sequences of bacterial pathogens which are used for Multi Locus Sequence Typing (MLST). **Materials and Methods:** In this work, using the interference of generated GB-speckle implementations, a comparison of concatenated nucleotide sequences, 7 household genes (namely, *gatA*, *gidA*, *enoA*, *fumC*, *hemN*, *hflX*, *oppA*) was performed for three bacterial strains of the *C. psittaci*, belonging to different sequence types (ST): ST 28, ST24, ST43. The generated GB-speckles were processed using the *s-LASCA* method. The polymorphism of these genes allows for intraspecific typing of bacteria by MLST. This method is widely used in molecular evolutionary analysis to establish the phylogenetic relationship and population structure of microorganisms, as well as to investigate the origin of epidemiologically significant strains of pathogens in molecular epidemiology. **Results:** When multiple SNP appear in the compared bacterial nucleotide sequences, the system of interference fringes may be destroyed due to the appearance of random amplitude modulation. If there is interference of GB-speckles that have been processed by the *s-LASCA* method, then the interference pattern does not have any interference fringes at all, but contains only non-Gaussian speckles with a contrast of more than 4. However, such high contrast values of interfering speckles are an indicator of the presence of an evident polymorphism in the targeted DNA fragments of bacterial pathogens. It has been shown that the new class of speckles, namely, GB-speckles that have been processed by the *s-LASCA* method, have unique statistical properties and have no analogues in nature. Special attention has been paid to the study of GB-speckle interference issues. It has been established that when the initial speckle fields interfere, regular fringes can appear in the interference pattern (with minimal differences in the initial nucleotide sequences belonging to different sequence types). **Conclusion:** The structure of the resulting interference patterns is unique. Interference fringes are completely absent in such pictures. The speckle structure is described by non-Gaussian statistics, and the speckles themselves look like bright flashes on a dark background. The contrast of interfering GB-speckles processed by the *s-LASCA* method is significantly higher than unity and lies in the range [4.4; 10.6]. Such high contrast values can serve as a reliable and unmistakable sign of the presence of polymorphisms in bacterial target genes. **Keywords:** GB-speckle, *s-LASCA* method, bioinformatics, *Chlamydia psittaci*, MLST

Acknowledgements: This study was funded by the Russian Science Foundation (project No. 17-16-01099) (continued).

For citation: Ulyanov S. S., Ulyanova O. V., Zaitsev S. S., Saltykov Yu. V., Ulyanov A. S., Feodorova V. A. The interference of GB-speckles in molecular discrimination of bacterial pathogens: The use of the *s-LASCA* method on the *Chlamydia psittaci* model. *Izvestiya of Saratov University. Physics*, 2021, vol. 21, iss. 4, pp. 315–328 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1817-3020-2021-21-4-315-328>

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

В медицинской оптике давно известен и широко используется метод *LASCA*-имиджинга [1]. Традиционно этот метод применяют для диагностики кровотока в норме и при некоторых патологических изменениях [2–14], мониторинга

растущих злокачественных опухолей, тестирования токсичности вакцин нового поколения против особо опасных заболеваний [15] и при изучении гидродинамики микропотока в изолированном кровеносном сосуде в брыжейках белых крыс [16].



Существенный прогресс был достигнут в мониторинге роста бактериальных колоний [17] с использованием методов анализа контраста лазерных спеклов (*s-LASCA*). Совсем недавно этот метод был применён для типирования и дискриминации генов бактериальных патогенов [18]. Как это было продемонстрировано в упомянутой работе [18], использование *s-LASCA* визуализации при обработке GB-спеклов позволяет получить дальнейшее увеличение чувствительности предлагаемого способа по сравнению с классическими методами биоинформатики [19].

В данной работе показана возможность применения в биоинформатике интерференции GB-спеклов, прошедших обработку методом *s-LASCA*. Продemonстрировано, что интерференционная картина двух *s-LASCA* образов GB-спеклов, полученных для двух сравниваемых генетических последовательностей, позволяет выявить у этих последовательностей наличие даже единичных различий (в 1 нуклеотид). Общеизвестно, что нуклеиновые кислоты (ДНК или РНК) хранят и передают генетическую информацию в живых организмах. Структурной и функциональной единицей наследственной информации является ген. Ген представляет собой последовательность нуклеотидов в молекуле нуклеиновых кислот. Молекулы ДНК состоят из четырех типов нуклеотидов. Эти нуклеотиды содержат соответственно четыре азотистых основания, а именно аденин (А), тимин (Т), гуанин (G) и цитозин (С). Нуклеотидную последовательность можно определить, используя специальную процедуру секвенирования [19–28], которая позволяет представить первичную структуру макромолекулы в виде линейной последовательности мономеров в текстовом формате. Важно подчеркнуть, что для нахождения идентичных фрагментов в нуклеотидной последовательности двух разных сравниваемых между собой генов требуется их последовательная обработка несколькими специальными компьютерными программами. Это занимает довольно продолжительное время и зачастую сопровождается трудностями в трактовке результатов из-за значительного количества (до 20%) ошибок на этапе секвенирования, что в настоящее время решается путем дополнительного неоднократного (иногда до 3–5 раз) ресеквенирования исходной матрицы с повторным многоступенчатым анализом.

Очевидно, что используемый алгоритм вызывает неудобства и затрудняет обработку данных даже при работе с небольшими нуклеотидными

последовательностями размером 250–500 п. о. (пар оснований). Еще больше проблем возникает при работе с последовательностями, размер которых превышает 1000–1300 п. о. Такие последовательности зачастую не могут быть расшифрованы за одно прочтение, несмотря на доступность большого числа различных стратегий секвенирования больших фрагментов ДНК. Многочисленные ошибки прочтения и анализа преодолеваются путем неоднократного прочтения разных фрагментов гена с тем же пакетом многоступенчатых компьютерных вычислений. Понятно, что обработка даже таких относительно больших, с точки зрения биоинформатики, фрагментов ДНК по сравнению с более короткими последовательностями является в 10–20 раз более трудоемким [29].

Однако если нуклеотидная последовательность записывается в аналоговом формате на дифракционном оптическом элементе или на голограмме, то такой искусственный оптический элемент может быть использован при конструировании оптического процессора. Другими словами, использование спеклов может быть чрезвычайно полезным при оптической обработке нуклеотидных последовательностей в реальном времени, разработке экспресс-методов идентификации микроорганизмов, детекции таргетных генов патогенов и их типирования благодаря высокой скорости обработки данных, отсутствию потребности в последовательном использовании нескольких программ и минимизации или полному отсутствию ошибок. Таким образом, представление последовательности нуклеотидов в виде спекл-структуры позволит как значительно усовершенствовать, так и создать инструменты современной биоинформатики и в перспективе методы лабораторной диагностики инфекционных и неинфекционных болезней человека и животных [19].

Ранее авторами данной статьи последовательности нуклеотидов гена *omp1* бактерии *Chlamydia trachomatis* (геновары D, E, F, G, J и K) и бактерии *Chlamydia psittaci* были успешно конвертированы в двумерные спекл-поля. В работах [30–32] был введен специальный термин GB-спекл-структуры (gene-based speckles) для определения принципиально нового класса спекл-полей. GB-спекл-поля обладают уникальными статистическими свойствами, которые были частично исследованы в работе [31]. Как было показано в статье [30], использование таких методов спекл-оптики, как спекл-коррелометрия, вычитание изображений



и спекл-интерферометрия, позволяет определить наличие природных мутаций в сравниваемых штаммах даже в случае минимальных различий всего в один нуклеотид SNP (от англ. Single Nucleotide Polymorphism, SNP – однонуклеотидный полиморфизм). При этом показано, что появление некоторых типов мутаций (в частности, делеций) [19] ведет к формированию полос в интерференционной картине при использовании метода спекл-интерферометрии [30]. В работе [32] проведена оптимизация алгоритма кодирования нуклеотидных последовательностей бактерии *C. trachomatis* в двумерные GB-спекл-поля, показано, что алгоритм, описанный в [31], близок к оптимальному. В статье [33] метод виртуальной спекл-интерферометрии фазового сдвига (4 bucket technique) был использован для исследования полиморфизма у двух вариантов *omp1* гена *C. trachomatis* (а именно штаммов E/Bour (E1 sub-type) и E/IU-4 2 0755u4 (E2 subtype)). Предложенный метод был успешно применен для детектирования гена *omp1* *C. trachomatis* всех известных субтипов, несущих генетические мутации в виде одиночных SNP или их комбинации. В статье [34] с использованием GB-спеклов был проведен анализ нуклеотидных последовательностей генов, кодирующих продукцию сериновых протеаз, белков семейства OmpTn, энтеробактерий – возбудителей таких актуальных инфекций, как сальмонеллез, иерсиниозы, шигеллез и эшерихиозы. В упомянутых работах сравнивались последовательности генов *pla* (*Yersinia pestis*), *pgtE* (*Salmonella enterica*), *sopA* (*Shigella flexneri*), *ompT* и *ompP* (*Escherichia coli*).

В настоящей работе при использовании интерференции сгенерированных реализаций GB-спеклов было произведено сопоставление сцепленных нуклеотидных последовательностей 7 генов домашнего хозяйства (*gatA*, *gidA*, *enoA*, *fumC*, *hemN*, *hflX*, *oppA*) для трех штаммов бактерии *C. psittaci*, относящихся к разным сиквенс-типам (СТ) (от англ. Sequence Type, ST), – ST28, ST24, ST43. Полиморфизм семи указанных генов позволяет проводить внутривидовое типирование бактерий, известное как мультилокусное сиквенс-типирование (MLST) (от англ. MultiLocus Sequence Typing) [35–39]. Данный метод широко используется в молекулярно-эволюционном анализе для установления филогенетического родства и популяционной структуры микроорганизмов, а также при расследовании происхождения эпидемически значимых штаммов патогенов в молекулярной эпидемиологии [35].

1. Преобразование последовательности нуклеотидов в спекл-структуру и алгоритм формирования GB-спеклов

Процесс формирования GB-спеклов продемонстрирован на примере нуклеотидной последовательности из семи сцепленных генов (*gatA*, *gidA*, *enoA*, *fumC*, *hemN*, *hflX*, *oppA*) бактерии *C. psittaci* штамма NJ1 (GenBank Accession Number: NC_018626.1), имеющего сиквенс-тип ST43.

Как было указано ранее [30], генерирование GB-спеклов состоит из нескольких этапов. На первом этапе последовательность букв из исходной одномерной нуклеотидной последовательности преобразуется в последовательность чисел в соответствии со следующим правилом [30]:

$$A \rightarrow 1, C \rightarrow 2, G \rightarrow 3, T \rightarrow 4. \quad (1)$$

Важно подчеркнуть, что, как было показано в работе [32], взаимосвязь букв и чисел в данном случае не является принципиальной. Иными словами, при кодировании могло быть использовано любое другое правило, например:

$$T \rightarrow 1, G \rightarrow 2, C \rightarrow 3, A \rightarrow 4. \quad (2)$$

На втором этапе генерируются все возможные комбинации (триады), содержащие лишь три числа из исходного полного набора из всех четырех чисел {1, 2, 3, 4}. В результате формируется полный набор всех триад:

$$(1\ 1\ 1), (1\ 1\ 2), (1\ 1\ 3), (1\ 1\ 4), (1\ 2\ 1), (1\ 2\ 2), \\ (1\ 2\ 3), (1\ 2\ 4), (1\ 3\ 1), \dots, (4\ 4\ 4).$$

Число всех возможных комбинаций из четырех чисел, объединенных в триады, равно 64.

Затем на следующем (третьем) этапе некоторая дискретная величина h приписывается каждой триаде в соответствии с несложным алгоритмом, описанным в статье [30]. Упомянутый алгоритм был реализован на Matlab R2015a. Величина h является целым числом, варьирующимся в интервале от 1 до 64. При этом каждая триада из исходной нуклеотидной последовательности ассоциируется только с одним значением h . Так, например, комбинация (1 1 1) соответствует величине $h = 1$, (1 1 2) соответствует $h = 2$, (1 1 3) соответствует $h = 3$, (1 1 4) соответствует $h = 4$, (1 2 1) соответствует $h = 5$, (1 2 2) соответствует $h = 6$ и так далее. Окончательно последняя комбинация (4 4 4) соответствует величине $h = 64$.

На четвертом этапе из одномерного массива h формируется квадратная матрица $H_{n,m}$. Физический смысл сформированной матрицы H состоит в том, что каждый ее элемент представляет собой локальную высоту некоей виртуальной шероховатой последовательности, соответствующей локальному содержанию анализируемой гене-



тической структуры. Полученные виртуальные шероховатые поверхности будут использованы для моделирования уникальных спекл-структур, соответствующих различным специфическим нуклеотидным последовательностям. Двумерное спекл-поле, соответствующее каждой конкретной нуклеотидной поверхности, генерируется с использованием дифракции когерентного пучка с профилем квадратного сечения на виртуальной рассеивающей поверхности с микрорельефом, описываемым матрицей $H_{n,m}$. Как уже упоминалось, $H_{n,m}$ задает высоты шероховатости поверхности. В каждой точке виртуального диффузора (в плоскости рассеяния пучка) вводится некоторая фазовая модуляция $U_{n,m} = \exp(-2\pi i H_{n,m}/64)$. Поверхность освещается при нормальном падении пучка, фаза в освещающем пучке является постоянной величиной.

Процедура перекодирования сцепленной нуклеотидной последовательности семи генов домашнего хозяйства указанного штамма NJ1 (ST43) в GB-спекл-структуру приведена ниже.

Исходная нуклеотидная последовательность выглядит следующим образом:

GCTACAGCAATAGCAAAGTATTTTTATA
 ATAGAATAAAAACAGAAGACAATCAGATAG
 GAGCTTTTCTTTCTTTTGTGAAGAAAGAG
 CTTATGAGAAAGCCGCTATCATAGATGCGA
 AACTTGCACGAGGAGAACCTGTAGGGAAC
 TCGCAGGTGTCCCGTTGGAATAAAAGATAA
 TATTCATATTCGAGGTTTACGCACTACTTGCG
 CTTCTAAAATGTTAGAAAACATATAGCCCCT
 TTTGATGCTACAGTAGTCGAACGGATAGAGG
 CTGAAGATGGGGTGATTCTAGGCAAACSTAA
 TATGGATGAGTTTGCCATGGGATCTACAACA
 CAATATTCTGCTTTTCATCCTACGAAAAATCC
 CTGGGATTTCTCCCGCGTGCCAGGAGGATC
 TTCAGGAGGATCTGCCGCAGCAGTTTCGGA
 TGTCAACATTTTCGCAAATCTCAAGACCAC
 CTTTCTATCAACATGAAAGACGACCCGCGC
 TCTTAGATCCTCGCGAAGTTCGTCTACTGT
 CTGATATTAATTTAATTAAGCATATTTATGAG
 GGGTTGGTTCAGGAAAATACACGCACAGG
 AAATCTAGAACCCGCACCTTGCTGAGAGCTA
 CTCCTTTTCTGATGATGGCAAGACCTATACT
 TTTTATTTAAAGAAGGCATATTGGAGTAATG
 GAGATCCTTTAACGTCAGAAGATTTTATTGC
 TTCTTGGAACAAGTGGTCAGACAAGAAG
 TTTCTAGTGTGATAATTTTGCTTTTGATCCT
 ATTAAGAATGTTAAGCAAATACAGCAAGGC
 GACTCTCTGAAGAGCATGTAGGGTTTTATA
 CAAAGGATGAGAAAACSTTAGTCATTGAGT

TAGAATCTCCAACCTCACATTTTCTGAAGCT
 TCTCGCATTACCTATTTTCTTTGAAGCGGGA
 CTTTCAGGTAGAATTAGCACGAGCACGTTAC
 CTTTCTCCCTCGTTTTAAAAAGGATGTGGGGT
 CACCTATCGCGTCAAAAATCCGGAGGTGGT
 AGTGGCGGAGGATTTGTAAAGGGAGAAGG
 GGAGAAGCAAATCGAACTAGATAGAAGGA
 TGATTCGTGAAAGAATTCACAAATTAACSTT
 AGATCTTAAGTCAGTAGAAAAGCAAAGAA
 AAGAGCGGCGCAAGGCTAAAGAGAAACGG
 GGGATTCCTTCGTTTGCTTTGATTGGTTATAC
 CAATTCGGGAAAAGTACTCTGTTGAATCTT
 TTAACSTTCTGCGGAAACTTACGTTGAGGACA
 AACTTTTTGCGACTTTAGATCCTAAAACACG
 TAGGTGTGTTCTTCTAGTGGGCAACGTGTT
 CTTGTTACAGATAACCGTGGGGTTTATCCGGA
 AATTGGTTATTCTGTCTTCCGGGACGTTTATG
 CGTGGTTTAAATTCATATTGGGGATCTTAATTT
 CCCTGGAGGACGTCTTGAGATCCTGCAGC
 AACAGGATTATCACTAGCATTAAGAAGACG
 TGGTTTCCCAATTAGCAGATTAAGACAGG
 CACGCCTCCGCGTTTGCTTGCTTCTCTATA
 GATTTTTCTGTAAGTGAAGAACAACCCGGA
 GATCCAGGCGTAGGCTTTGTACATAGAAGT
 GAGCCATTTGTCCCTCCCTTACCTCAAGTAT
 CGTGTTACATACCCCACTACAGAAAAAAC
 TAAGGAGATTATTGCGGCCAACATTCACCGC
 TCAGCTCTTTATGGAGGACGCATTGAAGGCA
 TAGGCCACGATACTGTCCATCGATTGAGGA
 TAAAATTGTAAAATTTGCTGATAAAGAGCGT
 CATCATATCTTCATAGAACCTGAAGGAATTCA
 TACTCAGGAAGTCTACGGCATGCATGCAGAC
 AATGGTCTTCAATTTCAAGAATTTATGATTG
 CCCTATAGGTGCACATTCTCTAAAAGAAGCT
 GTGCGTATGGGTGCTGATGTTTTCCATGCGTT
 GAAAAAACTGCTCAACGATAGACATCTCGCT
 ACAGGAGTTGGAGATGAAGGCGGATTTGCT
 CCAAACSTTAACATCTAACTCTGAAGCTTTAG
 ACCTTCTTTTACTAGCTATTGAAAAAGCAGG
 TTTCCAGCCTGGCGAGGAGATCTCTTTAGCT
 CTTGACTGTGCTGCATCTTCTTTCTACGATAC
 AAAAACAAAAACTTACGAAGGGAAAAACTC
 TCAAGAACAAGTCAGCATACTCGCCGATCT
 TTGTGACCGTTATCCTATTGACTCTCGTGTG
 AGCTTAGGAGTCCAAGATAACCAAGCTGCT
 GTTCAAGAAGCTGTACGGCGTCTCAAAGT
 CATGAAGAGTCACTTTATGCTTATGAAAAAT
 TCCGTGAGTTAGGTTTTGAAAGCATAAATAT
 AGATCTAATTTACGGTCTTCCAAAACAAC
 TAAGTTAACATTTACTCAAACGATTGCTGAT
 ATTTTACACATGCGGCCTGACCGCTTAGCG
 TTATTTTCATTTGCTTCTGTTCCATGGATAAA



ACCTCATCAAAAAGCTATGAAAGAAAGCGA
TATGCCCTCTATGGAGGAAAAATTCGCCATA
TATCTTATGCTCGACATACGTTAACGAAAG
CAGGTTACCAAGCCATTGGATTAGATCATTT
TTCTCTACCTGAAGACCCATTAAGCATAGC
TTTTAAAAACAAAACCTTTGATTCGGAATATT
GTTTCTGCTTCTGATGAGATTATAGCAGGCA
ATTTTGATGAGCATTTTCCTCTAAAAGTTTG
GCAGACAGGTAGTGGAACGCAATCAAATAT
GAATGTGAACGAGGTGATTGCGAATCTAGC
TATCAACGTCACGGTGGTGTTTTAGGTAGC
AAAACACCAATACACCCTAATGATCATGTAA
ATAAATCCCAATCTTCTAATGATGTGTCCCC
ACAGCTATGCATATTGCTGCAGTGATGAGTCT
GAAGAAGAAATTAATTCCTGCTCTGGATCAT
TTACAGCGGGCGTTAGATGCTAAGGTTACTG
AGTTTCGAGATTGTGTCAAGATTGGCAGAAC
ACATTTAATGGATGCTGTTCCCTATGACATTAG
GACAGGAATTTTCTGGTTACAGTAGCCAAAT
ACGTCAATGTTTAGAGAGAGTTCGCTTTTTCT
CTTACACACATGTATGAGTTAGCCATA

Преобразованная в числовой формат эта же последовательность принимает следующий вид:

32412132114132111341444441411413114111
11213113121142131413313244442444242444343
113111313244143131113223241421413143231112
44321231331311224341333111242321334342222
34433114111314114144214144231334441232124
124432324424111143441311112414141322224444
31432412134134231123314131332431131433334
31442413321112421141433143134443221433314
24121121211414424324444214224123111142224
33314442422232343221331331424421331331424
322321321344423314342112144442321114242113
12212244424142112143111312312223232424441
31422423231134423424124342431414411444114
411321414441431333344334421331111412123212
13311142413112223212443243131324124222444
243143143321131224141244444144411131133214
14433134114331314224441123421311314444144
32442443311121134334213121131134442413434
34141144443244443142241441131143441132111
4121321133234124242431131321434133344441
4121113314313111244413421443134413114242
2112242121444424311324424232144122414444
2444311323331244213341311441321231321234
41224424222423444111113314343333421224142
32342111114223313343341343323313314443441
13331311333313113211142311241314131133143
14423431113114421211144112444131424411342
13413111132111311113132332321133241113131
1123333314422442344432444314433441412211
44243331111341242434431142444411244243233

11124412344313312111244444323124441314224
11112123413343434424422413433321123434424
4344121314122343333444142233111443344144
24342442233312344414323433444114421414433
33142441144422243313312342443313142243213
211213314414212413214411113112343344422211
44132131441113121332123224223234443244324
422424141314444424341124311311211222331314
22133234133244434121413113431322144434222
42224412242113414234344121441222121241213
11111241133131441443233221121442122324213
24244414331331232144311332141332221231412
434221423144313314111144341111444324314111
31323421421414244214131122431133114421412
42133113424123321432143213121143342442114
44211311444143144232224141334321214424241
11131132434323414333432431434444221432344
31111124324211231413121424232412133134433
13143113323314443242211124411214241124243
11324441312244244441241324144311111321334
4422132243323133131424244413242443124343
243214244244424123141211112111124412311
3331111242421131121134213214124232231424
4434312234414224144312424234343132441331
34221131412221132432434421131132434123323
42342111342143113134212444143244143111114
42234313441334444311132141114141314241144
41233424422111121112411344112144412421112
3144324314144441212143233224312232441323
44144442144432442434422143314111122421421
11113241431113111323141432224241433133111
11442322141414424414324231214123441123111
3213344122113221443314413142144444242412
24311312221441132141324444111112111124443
1442331141443444243244243143131441413213
32114444314313214444224241111344433213121
33413433112321142111414311434311231334314
43231142413241442112342123343343444413341
321111212211412122241143142143411141114222
11424424114314343442222121324143214144324
321343143134243113113111441144224324243314
21444121323332344131432411334412431344423
13144343421131443321311212144411433143243
44224143121441331213311444424334412134132
21114123421143444131313134232444442424412
1212143414313441322141

Реализация GB-спеклов показана на рис. 1, а. Соответствующая фазовая структура для GB-спеклов представлена на рис. 1, б. Следует особо подчеркнуть, что в данной статье уровень интенсивности на всех рисунках был перенормирован в интервал [0; 255] для улучшения восприятия.

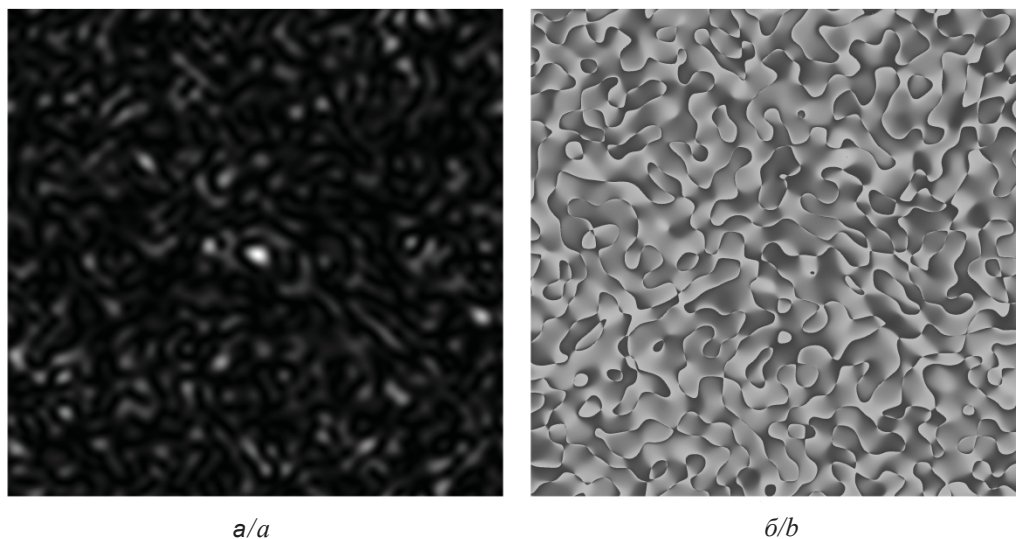


Рис. 1. GB-спеклы, сгенерированные для нуклеотидной последовательности из семи сцепленных генов (*gatA*, *gidA*, *enoA*, *fumC*, *hemN*, *hflX*, *oppA*) бактерий *C. psittaci* штамма NJ1 (ST43): *a* – распределение интенсивности в GB-спеклах; *b* – фазовая структура для GB-спеклов

Fig. 1. GB-speckles generated for a nucleotide sequence of seven concatenated genes (*gatA*, *gidA*, *enoA*, *fumC*, *hemN*, *hflX*, *oppA*) of the bacteria *C. psittaci* strain NJ1 (ST43): *a* – intensity distribution in GB-speckles; *b* – phase structure in GB-speckles

2. *s-LASCA* изображения GB-спеклов

s-LASCA изображения GB-спеклов получают следующим образом. Вся область спекл-структуры разбивается на серию подобластей, как правило, размером 5×5 или 7×7 пикселей. В каждой из подобластей вычисляется пространственный контраст по формуле

$$C = \frac{\sigma_I}{\langle I \rangle},$$

где σ_I – среднеквадратическое отклонение флуктуаций интенсивности; I – интенсивность, изменяющаяся от точки к точке, угловые скобки означают пространственное осреднение. Как было установлено в работе [18], наиболее информативное *s-LASCA* изображение появляется в случае, если размер подобластей составляет 2×2 пикселя.

В данной работе проанализированы *s-LASCA* изображения GB-спеклов и соответствующие им двумерные распределения фазы, полученные для штаммов *C. psittaci* трех разных сиквенс-типов (ST – Sequence Type): ST28 (штамм AMK-16) и ST24 (00GIMC 2003:Cps25SM) и ST43 (NJ1). В частности, на рис. 2 показаны двумерные распределения интенсивности и фазы GB-спеклов, полученных для *C. psittaci* ST43 (штамм NJ1).

Важно подчеркнуть, что контраст рассматриваемых изображений превышает единицу и лежит в диапазоне значений [1.299; 1.308].

Контраст исходных GB-спеклов, показанных на рис. 1, равен примерно 1. Это свидетельствует о том, что *s-LASCA* изображения GB-спеклов, в отличие от исходных GB-спеклов, подчиняются негауссовой статистике.

3. Вычитание *s-LASCA* изображений GB-спеклов

Эффективность вычитания первичных GB-спеклов с целью выявления природных мутаций в нуклеотидных последовательностях была проанализирована в статье [30]. На рис. 3 показан результат вычитания первичных GB-спеклов, полученных для сцепленных нуклеотидных последовательностей штаммов *C. psittaci* двух разных сиквенс-типов: ST28 (штамм AMK-16) и ST24 (штамм GIMC 2003:Cps25SM). Результат вычитания первичных GB-спеклов, сгенерированных для нуклеотидных последовательностей ST24 и ST43 (штаммы GIMC 2003:Cps25SM и NJ1), на рис. 3, *a* не представлен, поскольку визуально он неотличим от рис. 3, *b*.

В данной работе техника вычитания изображений была также применена и для исследования различий между *s-LASCA*-образами GB-спеклов. В частности, были проанализированы результаты вычитания *s-LASCA*-образов GB-спеклов для вышеуказанных последовательностей. Структуры разностных изображений очень схожи между собой (поэтому они не приводятся в данной статье).

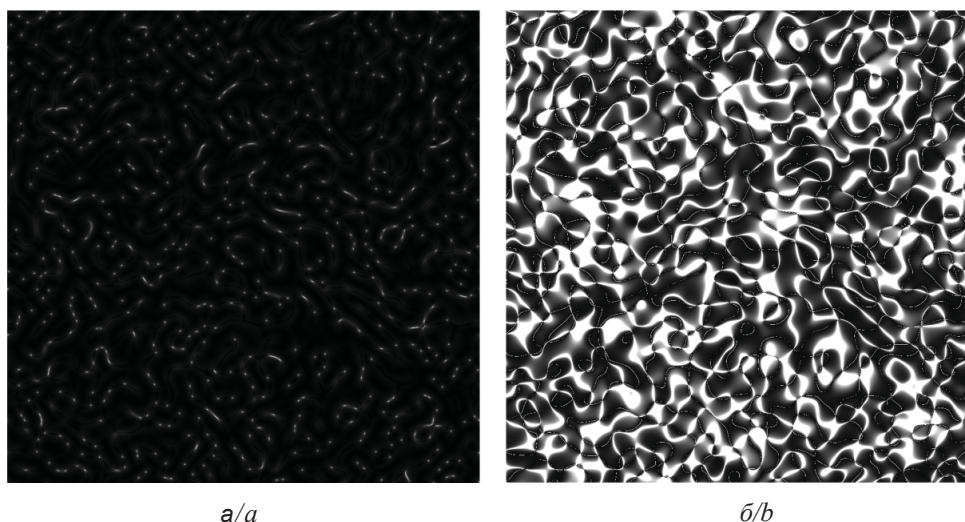


Рис. 2. *s-LASCA* изображения GB-спеклов, полученных для *C. psittaci* ST43 (штамм NJ1): *a* – двумерное распределение интенсивности *s-LASCA* изображения GB-спеклов; *b* – двумерное распределение фазы GB-спеклов после обработки методом *s-LASCA*

Fig. 2. *s-LASCA* images of GB-speckles obtained for *C. psittaci* ST43 (strain NJ1): *a* – two-dimensional intensity distribution of *s-LASCA* images of GB-speckles; *b* – two-dimensional phase distribution of GB-speckles after processing by the *s-LASCA* method

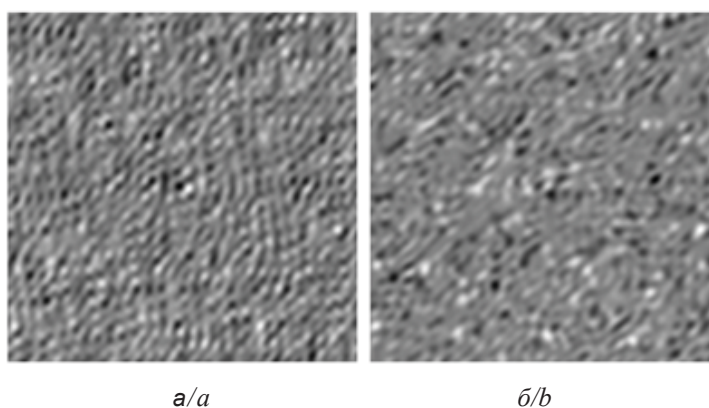


Рис. 3. Результат вычитания первичных GB-спеклов, сгенерированных для нуклеотидных последовательностей *C. psittaci* двух разных сиквенс-типов: *a* – ST28 и ST24 (штаммы AMK-16 и GIMC 2003:Cps25SM соответственно); *b* – ST28 и ST43 (штаммы AMK-16 и NJ1)

Fig. 3. The result of subtraction the initial GB-speckles generated for the nucleotide sequences of *C. psittaci* of two different sequence types: *a* – ST28 and ST24 (strains AMK-16 and GIMC 2003: Cps25SM, respectively); *b* – ST28 and ST43 (strains AMK-16 and NJ1)

Однако, как показывают результаты проведенного корреляционного анализа, максимальное значение коэффициента кросс-корреляции между полученными разностными изображениями составляет лишь 0.488, минимальное значение стремится к 0 (и равно $1.71 \cdot 10^{-4}$), а среднее значение равно 0.171. Столь малые значения коэффициентов кросс-корреляции, по-видимому, вызвано тем, что сравниваемые GB-спекл-поля (при

практически идентичных структурах) смещены относительно друг друга, что, в свою очередь, обусловлено появлением вставок и делеций в исходных нуклеотидных последовательностях.

Установлено также, что при наличии даже минимальных отличий в нуклеотидных последовательностях в структуре всех разностных изображений появляются хорошо детектирующиеся неоднородности. Однако контраст разностных



изображений крайне низок и лежит в интервале $[0.019; 0.034]$. Это свидетельствует о невысокой чувствительности метода, основанного на вычитании изображений с точки зрения выявления полиморфизма.

4. Интерференция GB-спеклов, прошедших обработку методом *s-LASCA*

Интерференционные картины, возникающие при сложении исходных GB-спеклов с учетом их фазовой структуры, показаны на рис. 4.

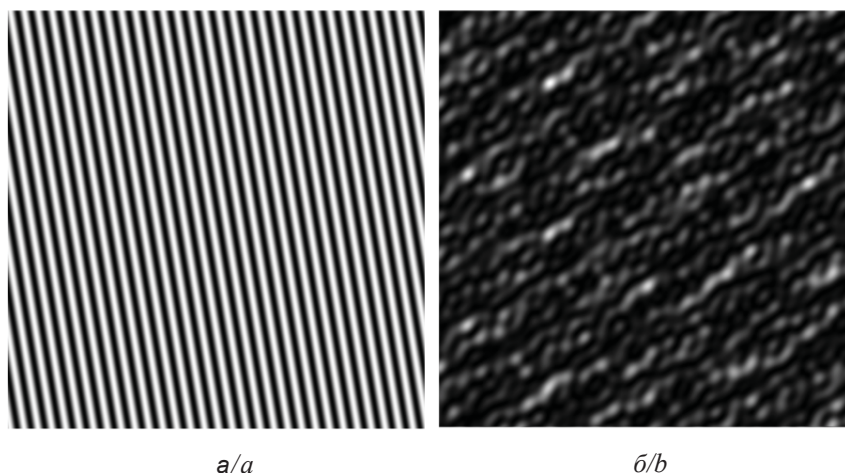


Рис. 4. Интерференционные картины при наложении двух исходных реализаций GB-спеклов, сгенерированных для нуклеотидных последовательностей *C. psittaci* трех разных сиквенс-типов: *a* – ST28 и ST24 (штаммы AMK-16 и GIMC 2003:Cps25SM); *б* – ST28 и ST43 (штаммы AMK-16 и NJ1)

Fig. 4. Interference patterns when two initial realizations of GB-speckles generated for *C. psittaci* nucleotide sequences of three different sequence types are overlapping: *a* – ST28 and ST24 (strains AMK-16 and GIMC 2003: Cps25SM); *b* – ST28 and ST43 (strains AMK-16 and NJ1)

Как видно из рис. 4, *a*, если различия между сопоставляемыми последовательностями минимальны, то интерференционная картина, возникающая при наложении исходных GB-спеклов, содержит параллельные полосы с незначительной амплитудной модуляцией. Если сходство между сравниваемыми нуклеотидными последовательностями уменьшается, то в системе интерференционных полос появляется существенная случайная амплитудная модуляция (см. рис. 4, *б*). Интерференционная картина, возникающая при наложении GB-спекл-структур, сгенерированных для двух ST24 и ST43 (штаммы GIMC 2003:Cps25SM и NJ1), отличается от интерференционной картины, представленной на рис 4, *б*, но визуально эти отличия незаметны. Поэтому из-за низкой информативности интерференционная картина для сиквенс-типов ST24 и ST43 в данной статье не представлена. Однако коэффициент кросс-корреляции интерференционных картин для сиквенс-типов ST24 и ST43 составляет лишь 0.751. Столь низкое значение коэффициента кросс-корреляции сравниваемых

почти идентичных GB-спекл-полей обусловлено их взаимным смещением относительно друг друга, что, опять-таки, вызвано возникновением вставок и делеций в исходных нуклеотидных последовательностях.

Появление спекл-модуляции в системе интерференционных полос свидетельствует о наличии мутаций в сопоставляемых нуклеотидных последовательностях.

Интерференционные картины, возникающие при сложении *s-LASCA* изображений GB-спеклов с учетом их фазовой структуры, показаны на рис. 5. Для лучшей визуализации показано только 25% полного изображения интерференционной картины.

Значения коэффициентов корреляции между изображениями, полученными для сиквенс-типов ST28 и ST24, штаммы AMK-16 и GIMC 2003:Cps25SM (см. рис. 5, *a*) и для сиквенс-типов ST28 и ST43, штаммы AMK-16 и NJ1 (см. рис. 5, *б*), невелики и лежат в диапазоне $[5.7 \cdot 10^{-3}; 0.531]$ при среднем значении 0.266. Структура возникающих интерференционных

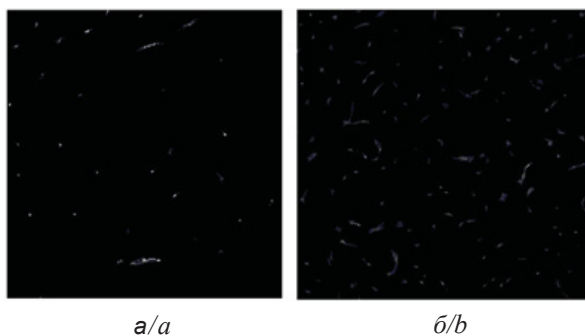


Рис. 5. Интерференционные картины при наложении двух реализаций GB-спеклов, сгенерированных для нуклеотидных последовательностей *C. psittaci* трех разных сиквенс-типов, после обработки методом *s-LASCA*: а – ST28 и ST24 (штаммы АМК-16 и GIMC 2003:Cps25SM) соответственно; б – ST28 и ST43 (штаммы АМК-16 и NJ1)

Fig. 5. Interference patterns in the superposition of two GB-speckle realizations generated for *C. psittaci* nucleotide sequences of three different sequence types, after processing by the *s-LASCA* method: а – ST28 and ST24 (strains АМК-16 and GIMC 2003: Cps25SM); б – ST28 and ST43 (strains АМК-16 and NJ1)

картин является уникальной. Интерференционные полосы в таких картинах полностью отсутствуют. Спекл-структура описывается негауссовой статистикой, а сами спеклы выглядят как яркие вспышки на темном фоне. Контраст интерферирующих GB-спеклов, прошедших обработку методом *s-LASCA*, существенно выше 1 и лежит в интервале [4.4; 10.6]. Столь высокие значения контраста могут служить безошибочным признаком наличия полиморфизма.

Заключение

В данной работе изучены новые возможности использования GB-спеклов для анализа сцепленных нуклеотидных последовательностей семи генов домашнего хозяйства *C. psittaci*. Показано, что новый класс спеклов, а именно GB-спеклов, прошедших обработку методом *s-LASCA*, обладает уникальными статистическими свойствами и не имеет аналогов в природе. Особое внимание в статье было уделено изучению вопросов интерференции GB-спеклов. Установлено, что при интерференции исходных спекл-полей в интерференционной картине могут появляться регулярные полосы (при минимальных различиях в исходных нуклеотидных последовательностях, принадлежащих к разным сиквенс-типам).

При появлении множественных SNP в сравниваемых бактериальных нуклеотидных последовательностях система интерференцион-

ных полос может разрушаться за счет появления случайной амплитудной модуляции. Если происходит интерференция GB-спеклов, прошедших обработку методом *s-LASCA*, то интерференционная картина вообще не имеет интерференционных полос, а содержит только негауссовы спеклы с контрастом более 4. Однако столь высокие значения контраста интерферирующих спеклов являются индикатором наличия выраженного полиморфизма в целевых фрагментах ДНК бактериальных патогенов.

Список литературы

1. Briers J., Webster J. S. Laser speckle contrast analysis (LASCA): a non-scanning, full-field technique for monitoring capillary blood flow // Journal of Biomedical Optics. 1996. Vol. 1, № 2. P. 174–179. <https://doi.org/10.1117/12.231359>.
2. Li P., Ni S., Zhang L., Zeng S., Luo Q. Imaging cerebral blood flow through the intact rat skull with temporal laser speckle imaging // Optics Letters. 2006. Vol. 31. P. 1824–1826. <https://doi.org/10.1364/OL.31.001824>.
3. Sini M., Linsely J., Sini M. Analysis of cerebral blood flow imaging by registered laser speckle contrast analysis (rLASCA) // Proceedings of 2011 International Conference on Signal Processing, Communication, Computing and Networking Technologies (ICSCCN 2011). P. 207–212. <https://doi.org/10.1109/ICSCCN.2011.6024545>.
4. Ickinger C., Lambrecht V., Tikly M., Vanhaecke A., Cutolo M., Smith V. Laser speckle contrast analysis is a reliable measure of digital blood perfusion in Black Africans with systemic sclerosis // Clinical and Experimental Rheumatology. 2021. Vol. 131, № 4. P. 119–123.
5. Aleksiev T., Ivanova Z., Dobrev H., Atanasov N. Application of a novel finger temperature device in the assessment of subjects with Raynaud's phenomenon // Skin Research Technology. 2021. P. 1–6. <https://doi.org/10.1111/srt.13070>.
6. Unal-Cevik I., Orhan D., Acar-Ozen NP., Mamak-Ekinci E. B. Small Fiber Functionality in Patients with Diabetic Neuropathic Pain // Pain Medicine. 2021. Vol. 22, № 2. <https://doi.org/10.1093/pm/pnab150>.
7. Gigante A., Villa A., Rosato E. Laser speckle contrast analysis predicts major vascular complications and mortality of patients with systemic sclerosis // Rheumatology (Oxford). 2021. Vol. 60, № 4. P. 1850–1857. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keaa514>.
8. Forstenpointner J., Sendel M., Moeller P., Reimer M., Canaan-Kühl S., Gaedeke J., Rehm S., Hüllemann P., Gierthmühlen J., Baron R. Bridging the Gap Between Vessels and Nerves in Fabry Disease // Frontiers in Neuroscience. 2020. Vol. 14. P. 448–458. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00448>.
9. Cutolo M., Vanhaecke A., Ruaro B., Deschepper E., Ickinger C., Melsens K., Piette Y., Trombetta A. C., De Keyser F., Smith V. Is laser speckle contrast analysis



- (LASCA) the new kid on the block in systemic sclerosis? A systematic literature review and pilot study to evaluate reliability of LASCA to measure peripheral blood perfusion in scleroderma patients // *Autoimmunity Reviews*. 2018. Vol. 17, № 8. P. 775–780. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2018.01.023>
10. Wang G., Zhang Y. P., Gao Z., Shields L. B. E., Li F., Chu T., Lv H., Moriarty T., Xu X. M., Yang X., Shields C. B., Cai J. Pathophysiological and behavioral deficits in developing mice following rotational acceleration-deceleration traumatic brain injury // *Disease Models & Mechanisms*. 2018. Vol. 11, № 1. P. 1210–1242. <https://doi.org/10.1242/dmm.030387>
 11. Tarantini S., Fulop G. A., Kiss T., Farkas E., Zölei-Szénási D., Galvan V., Toth P., Csiszar A., Ungvari Z., Yabluchanskiy A. Demonstration of impaired neurovascular coupling responses in TG2576 mouse model of Alzheimer's disease using functional laser speckle contrast imaging // *Geroscience*. 2017. Vol. 39, № 4. P. 465–473. <https://doi.org/10.1007/s11357-017-9980-z>
 12. Orozco Merino M. Y., Lasca L. Ilioplectineal bursitis // *Revista de la Facultad de Ciencias Medicas Univ Nac Cordoba*. 2016. Vol. 73, № 4. P. 306 (in Spanish). PMID: 28152373
 13. Brauer J. I., Beech I. B., Sunner J. Mass Spectrometric Imaging Using Laser Ablation and Solvent Capture by Aspiration (LASCA) // *J Am Soc Mass Spectrom*. 2015. Vol. 26, № 9. P. 1538–1547. <https://doi.org/10.1007/s13361-015-1176-0>
 14. Koshiji N. H., Bussadori S. K., Bortoletto C. C., Prates R. A., Oliveira M. T., Deana A. M. Laser speckle imaging: A novel method for detecting dental erosion // *PLoS One*. 2015. Vol. 10, № 2. P. 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118429>
 15. Ulianova O. V., Ulyanov S. S., Li P. Qingming Luo Estimation of reactogenicity of preparations produced on the basis of photoinactivated live vaccines against brucellosis and tularaemia on the organismic level // *Quantum Electronics*. 2011. Vol. 41, № 4. P. 340–343. <https://doi.org/10.1070/QE2011v041n04ABEH014600>
 16. Ulyanov S. S., Ganiylova Y., Zhu D., Qiu J., Li P., Ulianova O. V., Luo Q. LASCA with a small number of scatterers : Application for monitoring of microflow // *Europhysics Letters*. 2008. Vol. 82, № 1. P. 18005–18011. <https://doi.org/10.1209/0295-5075/82/18005>
 17. Ulianova O. V., Rebeza O., Ulyanov S. S. Investigations of processes of the growth of colonies of bacterial cells by the method of LASCA // *Optics and Spectroscopy*. 2016. Vol. 120, № 1. P. 88–93. <https://doi.org/10.1134/S0030400X16010227>
 18. Ulianova O. V., Ulyanov S. S., Zaytsev S. S., Saltykov Y. V., Feodorova V. A. LASCA-imaging of GB-speckles : Application for detection of the gene polymorphism in bacterial model // *Laser Physics Letters*. 2020. Vol. 17, № 6. P. 065603–065609. <https://doi.org/10.1088/1612-202X/ab8b66>
 19. Lesk A. M. Introduction to Bioinformatics. Oxford: Oxford University Press, 2002. 314 p. <https://doi.org/1002/biot.200800277>
 20. Sintchenko V., Roper M. Pathogen genome bioinformatics // *Methods in Molecular Biology*. 2014. Vol. 41, № 4. P. 173–193. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0847-9_10
 21. Collier J. H., Allison L., Lesk A. M., Stuckey P. J., Garcia de la Banda M., Konagurthu A. S. Statistical inference of protein structural alignments using information and compression // *Bioinformatics*. 2017. Vol. 33, № 7. P. 1005–1013. PMID: 28065899. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw757>
 22. Collier J. H., Allison L., Lesk A. M., Garcia de la Banda M., Konagurthu A. S. A new statistical framework to assess structural alignment quality using information compression // *Bioinformatics*. 2014. Vol. 30, № 17. P. 512–518. PMID: 25161241. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu460>
 23. d'Humières C., Salmons M., Dellière S., Leo S., Rodriguez C., Angebault C., Alanio A., Fourati S., Lazarevic V., Woerther P. L., Schrenzel J., Ruppé E. The Potential Role of Clinical Metagenomics in Infectious Diseases : Therapeutic Perspectives // *Drugs*. 2021. Vol. 81. P. 1453–1466. <https://doi.org/10.1007/s40265-021-01572-4>
 24. Kosvyra A., Ntzioni E., Chouvarda I. Network analysis with biological data of cancer patients : A scoping review // *Journal of Biomedical Informatics*. 2021. Vol. 120. P. 103873–103884. <https://doi.org/10.1016/j.jbi.2021.103873>
 25. Rahmatbakhsh M., Gagarinova A., Babu M. Bioinformatic Analysis of Temporal and Spatial Proteome Alterations During Infections // *Front Genet*. 2021. Vol. 12. P. 667936–667942. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.667936>
 26. Soltaninejad H., Zare-Zardini H., Ordooei M., Ghelmani Y., Ghadiri-Anari A., Mojahedi S., Hamidieh A. A. Antimicrobial Peptides from Amphibian Innate Immune System as Potent Antidiabetic Agents : A Literature Review and Bioinformatics Analysis // *Journal of Diabetes Research*. 2021. № 3. P. 1–10. <https://doi.org/10.1155/2021/2894722>
 27. Diwan A. D., Harke S. N., Gopalkrishna, Panche A. N. Aquaculture industry prospective from gut microbiome of fish and shellfish: An overview // *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2021. P. 1–29. <https://doi.org/10.1111/jpn.13619>
 28. Gawlik A., Salonen A., Jian C., Yanover C., Antosz A., Shmoish M., Wasniewska M., Bereket A., Wudy S. A., Hartmann M. F., Thivel D., Matusik P., Weghuber D., Hochberg Z. Personalized approach to childhood obesity: Lessons from gut microbiota and omics studies. Narrative review and insights from the 29th European childhood obesity congress // *Pediatric Obesity*. 2021. P. 1–9. <https://doi.org/10.1111/ijpo.12835>
 29. Mandeles S. Nucleic Acid Sequence Analysis. New York ; London : Columbia University Press, 1972. 282 p.
 30. Ulyanov S. S., Zaytsev S. S., Ulianova O. V., Saltykov Y. V., Feodorova V. A. Using of methods of speckle optics for Chlamydia trachomatis typing // *Proceeding of*



- SPIE. Bellingham, Washington : SPIE Press, 2017. Vol. 10336. P. 03360D. <https://doi.org/10.1117/12.2270760>
31. Ulyanov S. S., Ulianova O. V., Zaytsev S. S., Saltykov Y. V., Feodorova V. A. Statistics on gene-based laser speckles with a small number of scatterers : Implications for the detection of polymorphism in the Chlamydia trachomatis *omp1* gene // Laser Physics Letters. 2018. Vol. 15, № 4. P. 1–6. <https://doi.org/10.1088/1612-202X/aa111c>
32. Feodorova V. A., Ulyanov S. S., Zaytsev S. S., Saltykov Y. V., Ulianova O. V. Optimization of algorithm of coding of genetic information of Chlamydia // Proceedings of SPIE. Bellingham, Washington : SPIE Press, 2018. Vol. 10716. P. 107160Q. <https://doi.org/10.1117/12.2314640>
33. Feodorova V. A., Saltykov Y. V., Zaytsev S. S., Ulyanov S. S., Ulianova O. V. Application of virtual phase shifting speckle-interferometry for detection of polymorphism in the Chlamydia trachomatis *omp1* gene // Proceedings of SPIE. Bellingham, Washington : SPIE Press, 2018. Vol. 10716. P. 107160M. <https://doi.org/10.1117/12.2314700>
34. Ульянов С. С., Ульянова О. В., Зайцев С. С., Хижнякова М. А., Салтыков Ю. В., Филонова Н. Н., Субботина И. А., Ляпина А. М., Федорова В. А. Исследование статистических характеристик оптических ГВ-спеклов, формирующихся при рассеянии света на виртуальных структурах нуклеотидных последовательностей генов энтеробактерий // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Физика. 2018. Т. 18, вып. 2. С. 123–137. <https://doi.org/10.18500/1817-3020-2018-18-2-123-137>
35. Jelocnik M., Polkinghorne A., Pannekoek Y. Multilocus Sequence Typing (MLST) of Chlamydiales // Methods Molecular Biology. 2019. Vol. 2042. P. 69–86. <https://doi.org/10.1038/emi.2016.135>
36. Pérez-Losada M., Arenas M., Castro-Nallar E. Microbial sequence typing in the genomic era // Infect Genet Evol. 2018. Vol. 63. P. 346–359. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.09.022>
37. Glaeser S. P., Kämpfer P. Multilocus sequence analysis (MLSA) in prokaryotic taxonomy // Syst Appl Microbiol. 2015. Vol. 38, № 4. P. 237–245. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2015.03.007>
38. Liang W. T., Liu H., Deng Y. [Multilocus sequence typing and its application on population genetic structure analysis of parasites] // Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi. 2014. Vol. 26, № 4. P. 449–452. PMID: 25434151
39. Matsumura Y. [Multilocus sequence typing (MLST) analysis] // Rinsho Byori. 2013. Vol. 61, № 12. P. 1116–1122. PMID: 24605545
2. Li P., Ni S., Zhang L., Zeng S., Luo Q. Imaging cerebral blood flow through the intact rat skull with temporal laser speckle imaging. *Optics Letters*, 2006, vol. 31, pp. 1824–1826. <https://doi.org/10.1364/OL.31.001824>
3. Sini M., Linsely J., Sini M. Analysis of cerebral blood flow imaging by regis-tered laser speckle contrast analysis (rLASCA). *Proceedings of 2011 International Conference on Signal Processing, Communication, Computing and Networking Technologies (ICSCCN 2011)*, pp. 207–212. <https://doi.org/10.1109/ICSCCN.2011.6024545>
4. Ickinger C., Lambrecht V., Tikly M., Vanhaecke A., Cutolo M., Smith V. Laser speckle contrast analysis is a reliable measure of digital blood perfusion in Black Africans with systemic sclerosis. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 2021, vol. 131, no. 4, pp. 119–123.
5. Aleksiev T., Ivanova Z., Dobrev H., Atanasov N. Application of a novel finger temperature device in the assessment of subjects with Raynaud’s phenomenon. *Skin Research and Technology*, 2021, pp. 1–6. <https://doi.org/10.1111/srt.13070>
6. Unal-Cevik I., Orhan D., Acar-Ozen N. P., Mamak-Ekinci E. B. Small Fiber Functionality in Patients with Diabetic Neuropathic Pain. *Pain Medicine*, 2021, vol. 22, no. 2. <https://doi.org/10.1093/pm/pnab150>
7. Gigante A., Villa A., Rosato E. Laser speckle contrast analysis predicts major vascular complications and mortality of patients with systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)*, 2021. vol. 60, no. 4, pp. 1850–1857. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keaa514>
8. Forstenpointner J., Sendel M., Moeller P., Reimer M., Canaan-Kühl S., Gaedeke J., Rehm S., Hüllemann P., Gierthmühlen J., Baron R. Bridging the Gap Between Vessels and Nerves in Fabry Disease. *Frontiers in Neuroscience*, 2020, vol. 14, pp. 448–458. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00448>
9. Cutolo M., Vanhaecke A., Ruaro B., Deschepper E., Ickinger C., Melsens K., Piette Y., Trombetta A. C., De Keyser F., Smith V. Is laser speckle contrast analysis (LASCA) the new kid on the block in systemic sclerosis? A systematic literature review and pilot study to evaluate reliability of LASCA to measure peripheral blood perfusion in scleroderma patients. *Autoimmunity Reviews*, 2018, vol. 17, no. 8, pp. 775–780. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2018.01.023>
10. Wang G., Zhang Y. P., Gao Z., Shields L. B. E., Li F., Chu T., Lv H., Moriarty T., Xu X. M., Yang X., Shields C. B., Cai J. Pathophysiological and behavioral deficits in developing mice following rotational acceleration-deceleration traumatic brain injury. *Disease Models & Mechanisms*, 2018, vol. 11, no. 1, pp. 1210–1242. <https://doi.org/10.1242/dmm.030387>
11. Tarantini S., Fulop GA., Kiss T., Farkas E., Zölei-Szénási D., Galvan V., Toth P., Csiszar A., Ungvari Z., Yabluchanskiy A. Demonstration of impaired neurovascular coupling responses in TG2576 mouse model of Alzheimer’s disease using functional laser speckle contrast imaging. *Geroscience*, 2017, vol. 39, no. 4, pp. 465–473. <https://doi.org/10.1007/s11357-017-9980-z>

Reference

1. Briers J., Webster J. S. Laser speckle contrast analysis (LASCA): A non-scanning, full-field technique for monitoring capillary blood flow. *Journal of Biomedical Optics*, 1996, vol. 1, no. 2, pp. 174–179. <https://doi.org/10.1117/12.231359>



12. Orozco Merino M. Y., Lasca L. Ilioplectineal bursitis. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba*, 2016, vol. 73, no. 4, pp. 306 (in Spanish). PMID: 28152373
13. Brauer J. I., Beech I. B., Sunner J. Mass Spectrometric Imaging Using Laser Ablation and Solvent Capture by Aspiration (LASCA). *J Am Soc Mass Spectrom*, 2015, vol. 26, no. 9, pp. 1538–1547. <https://doi.org/10.1007/s13361-015-1176-0>
14. Koshiji N. H., Bussadori S. K., Bortoletto C. C., Prates R. A., Oliveira M. T., Deana A. M. Laser speckle imaging: A novel method for detecting dental erosion. *PLoS One*, 2015, vol. 10, no. 2, pp. 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118429>
15. Ulianova O. V., Ulyanov S. S., Li P. Qingming Luo Estimation of reagentogenicity of preparations produced on the basis of photoinactivated live vaccines against brucellosis and tularaemia on the organismic level. *Quantum Electronics*, 2011, vol. 41, no. 4, pp. 340–343. <https://doi.org/10.1070/QE2011v041n04ABEH014600>
16. Ulyanov S. S., Ganilova Y., Zhu D., Qiu J., Li P., Ulianova O. V., Luo Q. LASCA with a small number of scatterers: Application for monitoring of microflow. *Europhysics Letters*, 2008, vol. 82, no. 1, pp. 18005. <https://doi.org/10.1209/0295-5075/82/18005>
17. Ulianova O. V., Rebeza O., Ulyanov S. S. Investigations of processes of the growth of colonies of bacterial cells by the method of LASCA. *Optics and Spectroscopy*, 2016, vol. 120, no. 1, pp. 88–93. <https://doi.org/10.1134/S0030400X16010227>
18. Ulianova O. V., Ulyanov S. S., Zaytsev S. S., Saltykov Y. V., Feodorova V. A. LASCA-imaging of GB-speckles: Application for detection of the gene polymorphism in bacterial model. *Laser Physics Letters*, 2020, vol. 17, no. 6, pp. 065603–065609. <https://doi.org/10.1088/1612-202X/ab8b66>
19. Lesk A. M. *Introduction to Bioinformatics*. Oxford, Oxford University Press, 2002. 314 p. <https://doi.org/10.1002/biot.200800277>
20. Sintchenko V. Roper M. Pathogen genome bioinformatics. *Methods in Molecular Biology*, 2014, vol. 41, no. 4, pp. 173–193. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0847-9_10
21. Collier J. H., Allison L., Lesk A. M., Stuckey P. J., Garcia de la Banda M., Konagurthu A. S. Statistical inference of protein structural alignments using information and compression. *Bioinformatics*, 2017, vol. 33, no. 7, pp. 1005–1013. PMID: 28065899. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw757>
22. Collier J. H., Allison L., Lesk A. M., Garcia de la Banda M., Konagurthu A. S. A new statistical framework to assess structural alignment quality using information compression. *Bioinformatics*, 2014, vol. 30, no. 17, pp. 512–518. PMID: 25161241. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu460>
23. d’Humières C., Salmona M., Dellière S., Leo S., Rodriguez C., Angebault C., Alanio A., Fourati S., Lazarevic V., Woerther P. L., Schrenzel J., Ruppé E. The Potential Role of Clinical Metagenomics in Infectious Diseases: Therapeutic Perspectives. *Drugs*, 2021, vol. 81, pp. 1453–1456. <https://doi.org/10.1007/s40265-021-01572-4>
24. Kosvyra A., Ntzioni E., Chouvarda I. Network analysis with biological data of cancer patients: A scoping review. *Journal of Biomedical Informatics*, 2021, vol. 120, pp. 103873–103884. <https://doi.org/10.1016/j.jbi.2021.103873>
25. Rahmatbakhsh M., Gagarinova A., Babu M. Bioinformatic Analysis of Temporal and Spatial Proteome Alternations During Infections. *Front Genet*, 2021, vol. 12, pp. 667936–667942. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.667936>
26. Soltaninejad H., Zare-Zardini H., Ordooei M., Ghelmani Y., Ghadiri-Anari A., Mojahedi S., Hamidieh A. A. Antimicrobial Peptides from Amphibian Innate Immune System as Potent Antidiabetic Agents: A Literature Review and Bioinformatics Analysis. *Journal of Diabetes Research*, 2021, vol. 3, pp. 1–10. <https://doi.org/10.1155/2021/2894722>
27. Diwan A. D., Harke S. N., Gopalkrishna, Panche A. N. Aquaculture industry prospective from gut microbiome of fish and shellfish: An overview. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2021, pp. 1–29. <https://doi.org/10.1111/jpn.13619>
28. Gawlik A., Salonen A., Jian C., Yanover C., Antosz A., Shmoish M., Wasniewska M., Bereket A., Wudy S. A., Hartmann M. F., Thivel D., Matusik P., Weghuber D., Hochberg Z. Personalized approach to childhood obesity: Lessons from gut microbiota and omics studies. Narrative review and insights from the 29th European childhood obesity congress. *Pediatric Obesity*, 2021, vol. 16, no. 10, pp. 1–9. Published online. <https://doi.org/10.1111/ijpo.12835>
29. Mandeles S. *Nucleic Acid Sequence Analysis*. New York, London, Columbia University Press, 1972. 282 p.
30. Ulyanov S. S., Zaytsev S. S., Ulianova O. V., Saltykov Y. V., Feodorova V. A. Using of methods of speckle optics for Chlamydia trachomatis typing. *Proceedings of SPIE*. Bellingham, Washington, SPIE Press, 2017, vol. 10336, pp. 03360D. <https://doi.org/10.1117/12.2270760>
31. Ulyanov S. S., Ulianova O. V., Zaytsev S. S., Saltykov Y. V., Feodorova V. A. Statistics on gene-based laser speckles with a small number of scatterers: Implications for the detection of polymorphism in the Chlamydia trachomatis *omp1* gene. *Laser Physics Letters*, 2018, vol. 15, no. 4, pp. 1–6. <https://doi.org/10.1088/1612-202X/aaal1c>
32. Feodorova V. A., Ulyanov S. S., Zaytsev S. S., Saltykov Y. V., Ulianova O. V. Optimization of algorithm of coding of genetic information of Chlamydia. *Proceedings of SPIE*. Bellingham, Washington, SPIE Press, 2018, vol. 10716, pp. 107160Q. <https://doi.org/10.1117/12.2314640>
33. Feodorova V. A., Saltykov Y. V., Zaytsev S. S., Ulyanov S. S., Ulianova O. V. Application of virtual phase shifting speckle-interferometry for detection of polymorphism in the Chlamydia trachomatis *omp1* gene. *Proceedings of SPIE*. Bellingham, Washington, SPIE Press, 2018, vol. 10716, pp. 107160M. <https://doi.org/10.1117/12.2314700>



34. Ulyanov S. S., Ulianova O. V., Zaitsev S. S., Khizhnyakova M. A., Saltykov Yu. V., Filonova N. N., Subbotina I. A., Lyapina A. M., Feodorova V. A. Study of Statistical Characteristics of GB-speckles, Forming at Scattering of Light on Virtual Structures of Nucleotide Gene Sequences of Enterobacteria. *Izvestiya of Saratov University. Physics*, 2018, vol. 18, iss. 2, pp. 123–137 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1817-3020-2018-18-2-123-137>
35. Jelocnik M., Polkinghorne A., Pannekoek Y. Multilocus Sequence Typing (MLST) of Chlamydiales. *Methods Molecular Biology*, 2019, vol. 2042, pp. 69–86. <https://doi.org/10.1038/emi.2016.135>
36. Pérez-Losada M., Arenas M., Castro-Nallar E. Microbial sequence typing in the genomic era. *Infect Genet Evol*, 2018, vol. 63, pp. 346–359. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.09.022>
37. Glaeser S. P., Kämpfer P. Multilocus sequence analysis (MLSA) in prokaryotic taxonomy. *Syst Appl Microbiol*, 2015, vol. 38, no. 4, pp. 237–245. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2015.03.007>
38. Liang W. T., Liu H., Deng Y. [Multilocus sequence typing and its application on population genetic structure analysis of parasites]. *Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi*, 2014, vol. 26, no. 4, pp. 449–452 (in Chinese). PMID: 25434151
39. Matsumura Y. [Multilocus sequence typing (MLST) analysis]. *Rinsho Byori*, 2013, vol. 61, no. 12, pp. 1116–1122 (in Japanese). PMID: 24605545

Поступила в редакцию 09.08.2021, после рецензирования 07.09.2021, принята к публикации 15.09.2021

Received 09.08.2021, revised 07.09.2021, accepted 15.09.2021