

## РЕДАКТИРОВАНИЕ МИКРОБНЫХ ГЕНОМОВ С ПОМОЩЬЮ CRISPR-CAS ТЕХНОЛОГИЙ: НОВЫЕ ПОДХОДЫ К СОЗДАНИЮ ПРОБИОТИКОВ И БИОФАБРИК.

<https://doi.org/10.2861/zenodo.18043225>

**Садуллаев О.К., Хайдарова Д.У., Жуманиязова С.Р.**

*Ургенчский Государственный Медицинский Институт*

**Актуальность:** Современная микробиология и биотехнология находятся на этапе стремительного развития, связанного с внедрением методов точного редактирования геномов. Ключевым инструментом этого направления стала технология **CRISPR-Cas**, позволившая перейти от традиционных методов мутагенеза и селекции к высокоточным молекулярным вмешательствам в ДНК микроорганизмов. Впервые открытая как система адаптивного иммунитета бактерий, сегодня CRISPR используется как универсальная платформа для программируемого редактирования генетического материала.

Особое значение данная технология имеет для **модификации микробных штаммов**, применяемых в пищевой, фармацевтической и биотехнологической промышленности. Микроорганизмы используются как **биофабрики** - живые системы, способные синтезировать белки, ферменты, витамины, органические кислоты и другие вещества, востребованные в промышленности и медицине. В то же время растёт интерес к созданию **новых пробиотических культур**, обладающих целенаправленным действием на микробиоту человека и способных синтезировать терапевтически значимые соединения [1,5,10,17,26,33].

Применение CRISPR-Cas для редактирования микробных геномов открывает качественно новые возможности:

- точное удаление или вставка генов, отвечающих за ключевые метаболические пути;
- регулирование экспрессии генов без изменения структуры ДНК (с помощью CRISPRi и CRISPRa);
- создание мультигенных модификаций, обеспечивающих комплексную перестройку клеточного метаболизма;

ускоренное получение штаммов с предсказуемыми свойствами, что невозможно достичь методами случайного мутагенеза. Особенно перспективным направлением становится применение CRISPR-технологий в разработке **пробиотиков нового поколения**. Такие микроорганизмы могут

не только колонизировать кишечник, но и активно участвовать в метаболических и иммунных процессах, синтезировать противомикробные пептиды, витамины, аминокислоты и сигнальные молекулы, влияющие на состояние организма человека. Редактирование генома позволяет повышать устойчивость пробиотиков к стрессовым условиям пищеварительного тракта и усиливать их функциональные свойства[1,5,15,21,23,27,30].Анализ современных подходов к редактированию микробных геномов с применением CRISPR-Cas технологий и оценка их эффективности при создании новых пробиотических штаммов и микробных биофабрик.

В настоящего время рассмотрены и сопоставлены следующие методы:

- **CRISPR-Cas9 и CRISPR-Cas12a редактирование** - для точечного внесения мутаций в гены, ответственные за метаболические функции микроорганизмов;
- **CRISPR interference (CRISPRi)** - для временного подавления экспрессии генов, участвующих в нежелательных метаболических путях;
- **Base editing и prime editing**- для сверхточных замен нуклеотидов без разрыва ДНК-цепи;
- **Мультиплексное редактирование** - одновременная модификация нескольких генов, направленная на комплексную перестройку клеточного метаболизма;

Метаболический инжиниринг с использованием CRISPR-платформ для оптимизации синтеза целевых метаболитов в штаммах *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* и *Lactobacillus spp.* [2,3,12,19,28,36,39,40].

Применение CRISPR-технологий позволило достичь следующих результатов в области создания пробиотиков и микробных биофабрик:

## 1. Создание усовершенствованных пробиотических штаммов

Редактирование генов, отвечающих за устойчивость к кислой и щелочной среде, повысило жизнеспособность *Lactobacillus plantarum* и *Bifidobacterium longum* в желудочно-кишечном тракте.

Изменения в генах, участвующих в метаболизме аминокислот, улучшили способность бактерий синтезировать противовоспалительные соединения и иммуномодулирующие пептиды.

## 2. Разработка функциональных пробиотиков с терапевтическими свойствами

Использование CRISPR-Cas для вставки генов, кодирующих противомикробные пептиды и белки, позволило создать штаммы, способные подавлять рост патогенных микроорганизмов и регулировать воспалительные процессы в кишечнике.

### 3. Оптимизация

Применение CRISPR-Cas в системах *E. coli* и *Corynebacterium glutamicum* обеспечило повышение выхода целевых продуктов- аминокислот, витаминов и биополимеров.

Удаление генов, ответственных за образование побочных метаболитов, повысило эффективность синтеза биопластика (полигидроксиалканоатов) и биотоплива.

### 4. Перспективные

### направления

Новые подходы, такие как CRISPRa/CRISPRi для регуляции активности генов без модификации ДНК, а также интеграция CRISPR с системами машинного обучения, позволяют проектировать микробные системы с заранее заданными свойствами.

Применение технологий CRISPR-Cas в микробиологии стало важным этапом в развитии медицинской науки и биоинженерии. Возможность точного редактирования геномов микроорганизмов открыла новые пути для создания пробиотиков с улучшенными свойствами и микробных систем, способных выполнять терапевтические функции [4,6,13,22,25,29,34,38]. Использование CRISPR позволило модифицировать штаммы пробиотических бактерий, усилив их устойчивость к агрессивным факторам желудочно-кишечного тракта и повысив способность к синтезу биологически активных соединений. Такие микроорганизмы могут применяться для профилактики и коррекции нарушений микробиоты, а также в качестве вспомогательных средств в терапии воспалительных и инфекционных заболеваний кишечника [7,9,18,24,32,35].

В медицинской биотехнологии CRISPR-технологии используются также для конструирования микробных биофабрик - живых систем, производящих вещества фармакологического значения: пептиды, аминокислоты, ферменты, витамины и иммуномодуляторы. Это позволяет получать лекарственные и профилактические препараты нового поколения на основе безопасных и биосовместимых микробных платформ [8,11,14,16,20,31,37]. Таким образом, CRISPR-Cas становится ключевым инструментом медицинской микробиологии, объединяющим достижения генной инженерии, синтетической биологии и метаболического инжиниринга. Дальнейшее развитие этой технологии открывает перспективы создания персонализированных пробиотиков, целевых микробных терапий и экологически безопасных биотехнологических решений для медицины будущего.

## ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА:

1. Смирнихина С. А., Анучина А. А., Куцев С. И. Базовые принципы редактирования генома.
2. Кудрявцев А. Н., Пономаренко Н. С. Применение технологий CRISPR-Cas в микробиологической промышленности.
3. Сафонова О. А., Громова О. В. Возможности технологии CRISPR-Cas9 в создании пробиотиков нового поколения.
4. Doudna J. A., Charpentier E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9.
5. Barrangou R., Marraffini L. A. CRISPR-Cas systems: Prokaryotes upgrade to adaptive immunity.
6. Wang Y., Zhang Z.-T., Seo S.-O., et al. Markerless chromosomal gene deletion in *Clostridium acetobutylicum* using CRISPR-Cas9 system.
7. Zheng Y., Li J., Wang B., Han J., Hao Y. CRISPR-Cas systems in *Lactobacillus*: Their applications and future prospects in biotechnology and probiotics development.
8. Liu L., Chen P., Wang M., Zou Y. CRISPR-based metabolic engineering of microbial cell factories for production of bioactive compounds.
9. Каримова, М. А., Садуллаев, О. К., Самандарова, Б. С., & Усманов, У. У. (2025). ИЗУЧЕНИЕ СТЕПЕНИ ВЛИЯНИЯ ГЕННО-МОДИФИЦИРОВАННОГО СОИ НА НОРМАЛЬНУЮ МИКРОФЛОРУ ТОЛСТОЙ КИШКИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ. *Multidisciplinary Journal of Science and Technology*, 5(6), 1254-1257.
10. Садуллаев, О. К., Бабажанов, Т. И., & Бахадирова, Д. Д. (2025). ЗНАЧЕНИЕ МИКРОБИОТЫ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА. *AMERICAN JOURNAL OF APPLIED MEDICAL SCIENCE*, 3(4), 287-291.
11. Садуллаев, О. К., Бабажанов, Т. И., & Бахадирова, Д. Д. (2025). ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ И ЗНАЧЕНИЕ ПРОФИЛАКТИКИ В ПРЕДОТВРАЩЕНИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ. *AMERICAN JOURNAL OF APPLIED MEDICAL SCIENCE*, 3(4), 282-286.
12. Sokolova, E. A., Sadullaev, O. K., Samandarova, B. S., & Ilinskaya, O. N. (2024). The structure of the incidence of acute intestinal infections in children of the Southern Aral Sea region and bioimmune correction of intestinal microbiocenosis in shigellosis. *Kazan medical journal*, 105(2), 205-213.
13. Латипова, Ш. Б. (2021). Курбанниёзова Юлдуз Аллабергановна Ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии

Ургенчского филиала ТТА (Ургенч, Узбекистан). *POLISH SCIENCE JOURNAL*, 149.

14. Kodirovich, S. O., Bekturdievna, L. S., & Allaberganova, K. Y. (2021). Comparative assessment of intestinal microbiocenoses of healthy children living in ecologically unfavorable conditions of the Southern Aral Sea region and in the city of Tashkent. *Central Asian Journal of Medical and Natural Science*, 2(3), 42-45.
15. Садуллаев, О. К., & Каримова, М. И. (2019). МИКРОБИОЦЕНОЗ КИШЕЧНИКА У ДЕТЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ В НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ УСЛОВИЯХ ЮЖНОГО ПРИАРАЛЬЯ, БОЛЬНЫХ ДИАРЕЕЙ С САЛЬМОНЕЛЛЁЗНОЙ ЭТИОЛОГИИ, НА ФОНЕ ЛЕЧЕНИЯ ТРАДИЦИОННЫМИ МЕТОДАМИ. In *СОВРЕМЕННАЯ НАУКА: АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ, ДОСТИЖЕНИЯ И ИННОВАЦИИ* (pp. 181-184).
16. Закиров, Ш., Садуллаев, О., Самандарова, Б., Аллаберганова, З., & Каримова, М. (2020). ИЗУЧЕНИЕ НОСИТЕЛЬСТВА ПАТОГЕННОГО СТАФИЛОКОККА (*S. AUREUS*) У МЕДИЦИНСКОГО ПЕРСОНАЛА ХИРУРГИЧЕСКИХ ОТДЕЛЕНИЙ ЛПУ, АКУШЕРСКИХ СТАЦИОНАРОВ И ПОКАЗАТЕЛИ ПРИОБРЕТЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ПО ОТНОШЕНИЮ К РАЗНЫМ АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ. *Журнал Вестник врача*, 1(1), 24-27.
17. Садуллаев, О., Курбаниязова, М., & Каримова, М. (2017). Корреляционный анализ взаимосвязи нарушений микрофлоры кишечника у детей, больных с диареей проживающих в условиях южного приаралья. *Журнал проблемы биологии и медицины*, (4 (97)), 190-191.
18. Садуллаев, О. К., & Курбаниязова, М. З. (2017). ИЗУЧЕНИЕ ПЛАЗМОКОАГУЛИРУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ФЕКАЛИИ ЗДОРОВЫХ И БОЛЬНЫХ ДЕТЕЙ ДИАРЕЙНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПРОЖИВАЮЩИХ В ЭКОЛОГИЧЕСКИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ УСЛОВИЯХ ЮЖНОГО ПРИАРАЛЬЯ. *Актуальные научные исследования в современном мире*, (12-8), 48-50.
19. Садуллаев, О. К., & Каримова, М. А. (2017). ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ФЕКАЛИИ ЗДОРОВЫХ И БОЛЬНЫХ ДЕТЕЙ С ДИАРЕЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ В ЭКОЛОГИЧЕСКИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ УСЛОВИЯХ ЮЖНОГО ПРИАРАЛЬЯ. *Актуальные научные исследования в современном мире*, (12-8), 51-53.
20. Садуллаев, О. К., & Сувонов, К. Ж. Турли мантакаларда яшовчи хомиладорлар оғиз бушлиги махалий иммунитет омиллар холати Услубий кулланма. *Ургенч.-2008.-12 б.*

21. Садуллаев, О. К., & Исмаилова, Х. Г. (2023). КАК ВОЗДЕЙСТВУЕТ ПАНДЕМИЯ COVID 19 НА ПСИХОЛОГИЧЕСКОЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ОРГАНИЗМА В РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТАХ И ЕГО ЛЕЧЕНИЕ. МИКРОБИОЛОГИЯНИНГ ДОЛЗАРБ МУАММОЛАРИ» МАВЗУСИДАГИ РЕСПУБЛИКА ИЛМИЙ-АМАЛИЙ АНЖУМАНИ, 160.
22. Каримова, М. А., Садуллаев, О. К., Самандарова, Б. С., & Аллаберганова, З. С. (2023). Негативное влияние генетически модифицированной сои на флору толстой кишки в эксперименте. *Science and innovation*, 2(Special Issue 8), 1780-1783.
23. Дусчанов, Б. А., Закиров, Ш. Ю., Садуллаев, О. К., & Самандарова, Б. С. (2023). О НОВОМ ШТАММЕ КОРОНАВИРУСА «ОМИКРОН».
24. Садуллаев, О. К., & Каримов, Р. О. (2018). АНАЛИЗ ДОСТИЖЕНИЙ И ПРОБЛЕМ ВАКЦИНАЦИИ. *Современные исследования*, (5), 265-268.
25. Sadullaev, O. K. (2017). REGION. ACTUAL PROBLEMS OF MODERN SCIENCE, EDUCATION AND TRAINING IN THE REGION, 2, 154.
26. Sadullaev, O. K., & Samandarova, B. S. Akhmedova M.(Urgench branch of the Tashkent Medical Academy). ACTUAL PROBLEMS OF MODERN SCIENCE, EDUCATION AND 2017 TRAINING IN THE REGION, 138.
27. Kodirovich, S. O. PhD, associate professor. Associate professor, department of natural sciences, Urgench branch of the Tashkent medical academy e-mail: Saduilaevotanazar@mail.ru. MODERN PROBLEMS OF TOURISM AND ECONOMICS..... 100, 44.
28. Нуралиев, Н. А., Садуллаев, О. К., & Сайдов, Б. О. Способ культивирования бифидобактерий для микробиологической диагностики дисбактериоза кишечника. *Рац. предложение N*, 10.
29. Saduilayev, O. K. (2018). THE STUDY OF THE INTESTINAL MICROBIOCENOSIS OF CHILDREN SUFFERING FROM COLIANT DISEASES WITH TRADITIONAL METHODS. *Central Asian Problems of Modern Science and Education*, 3(3), 44-47.
30. Садуллаев О.К., Улугбекова Д. К. Влияние микроорганизмов на экологию и охране окружающей среды. *Jurnal of multidisiplinary innovation in science and education*. 2025.1.(2), 376-382.
31. Садуллаев О.К., Улугбекова Д. К. Инсон хаётида одам организмидаги микрофлоранинг ахамияти. *Jurnal of multidisiplinary innovation in science and education*. 2025.1.(2), 369-375.

32. Sadullayev O.K., Ilyasova G. Antibiotiklarga chidamli bakteriyalar va ularning tibbiyotga ta siri. *Jurnal of multidisiplinary innovation in science and education.* 2025.1.(2), 383-390.
33. Sadullayev O.K., Ilyasova G. Kasalliklarni oldini olishda epidemiologik jixatlar va profilaktikaning axamiyati. *Jurnal of multidisiplinary innovation in science and education.* 2025.1.(2), 391-397.
34. Sadullayev O.Q., Shavkanova M.A., Atabayeva B., Raximiy X. Sh. *Mikroorganizmlarning xavfi, foydasi va kelajak imkoniyatlari*. *Jurnal of multidisiplinary innovation in science and education.* 2025.1.(3) 45-52.
35. Sadullayev O.Q., Tog'aymuratova M.K., Atabayeva N.B., Raximiy X. Sh. Zamonaviy tibbiyotda mikrobiologiya fanining o'rni. *Jurnal of multidisiplinary innovation in science and education.* 2025.1.(3) 53-60.
36. Sadullayev O.Q., Saidov B.O. Disbakteriozni davosi va profilaktikasi. *Jurnal of multidisiplinary innovation in science and education.* 2025.1.(3) 53-60.
37. Садуллаев О.К., Сайдов Б.О. Роль кишечный палочки в организме и методы их исследование. *Jurnal of multidisiplinary innovation in science and education.* 2025.1.(4) 76-85.
38. Sadullayev O.Q., Saidov B.O. Disbakteriozni davosi va profilaktikasi. *Jurnal of multidisiplinary innovation in science and education.* 2025.1.(4) 100-106.
39. Sadullayev O.Q., Dovletmuratova M.G., Zakirov Sh. Yu. *Salmonella infeksiyalarining genetik xilma-xilligi, antibiotiklarga chidamliligi va ularning mikrobiota hamda immun javob bilan o'zaro ta'siri.* *Jurnal of multidisiplinary innovation in science and education.* 2025.1.(4) 86-92.
40. Садуллаев О.К., Ниёзметов Д.К., Закиров Ш.Ю. *Роль микробиоты кишечника в профилактике неинфекционных заболеваний у детей младшего возраста в условиях экологически неблагоприятных регионов»* *Jurnal of multidisiplinary innovation in science and education.* 2025.1.(4) 92-99.