

ПОШИРЕННЯ ХІТИНАЗНИХ ГЕНІВ В ГЕНОМАХ СТРЕПТОМІЦЕТІВ

Поліщук Л.В.

Інститут мікробіології і вірусології Національної академії наук України,
вул. Заболотного, 154, 03143, м. Київ
LVPolishchuk@ukr.net

Хітин – одна з найбільш поширених органічних сполук в природі. Однак не спостерігається значного його накопичення в природі. Як вважають, бактерії є головними деструкторами хітину в природі. Крім того, хітинолітичні ферменти – це можлива альтернатива застосування синтетичних пестицидів, гербіцидів, інсектицидів і фунгіцидів. Мікробні хітинази руйнують стінки клітин багатьох шкідників і патогенів, тим самим проявляють антибактеріальну, протигрибкову, інсектицидну або антигельмінтну активність. Найбільше вивчено хітинази стрептоміцетів, зокрема *Streptomyces coelicolor* A3(2). За даними літератури, в геномі штаму *S. coelicolor* A3(2) виявлено більш ніж десятків генів, які кодують хітинази. Був проведений аналіз нуклеотидних послідовностей плазмідних і хромосомних ДНК стрептоміцетів (загальнодоступна Інтернет база GenBank, сервер NCBI). Вирівнювання послідовностей проводилося із застосуванням пакета програм BLASTN (сервер NCBI). Нами визначалася поширеність в геномах стрептоміцетів послідовностей, що кодують хітинолітичні ензими та встановлено ступінь подібності їх первинних структур сиквенсам chi-генів штаму *S. coelicolor* A3(2). Такі послідовності chi-генів *S. coelicolor* A3(2) широко поширені в геномах стрептоміцетів. Однак, кількість таких послідовностей варіює в значному діапазоні: від подібності сиквенсам 11 референсних генів до подібності сиквенсу тільки 1 такого гена. Найчастіше виявляються послідовності, подібні сиквенсам певних генів з підродин GH18A (chiC, chiD) та GH18B (chiA, chiB). Показано, що ступінь схожості первинних структур обов'язкових генів (на прикладі 16S рРНК) корелює зі ступенем подібності додаткових генів (хітиназні гени). Показана можливість застосування аналізу послідовностей chi-генів для класифікації стрептоміцетів (на ряду з традиційними генетичними та фенотиповими характеристиками). Виявлено, що штами стрептоміцетів, які є найперспективнішими джерелами хітинолітичних ензимів, є членами *S. albidoflavus* групи. **Ключові слова:** хітиназа, стрептоміцет, chi-ген, показники ідентичності.

Prevalence of chitinase genes in streptomycetes genomes. Polishchuk L.

Chitin is one of the most common organic compounds in nature. However, there is no significant accumulation of it in nature. Bacteria are thought to be the main destructors of chitin in the environment. In addition, chitinolytic enzymes are a possible alternative to the use of synthetic pesticides, herbicides, insecticides and fungicides. Microbial chitinases destroy the cell walls of many pests and pathogens, thereby exhibiting antibacterial, antifungal, insecticidal or anthelmintic activity. Streptomycete chitinases, in particular *Streptomyces coelicolor* A3(2), have been studied the most. According to the literature, in the genome of the strain *S. coelicolor* A3(2) more than a dozen genes that encode chitinase was found. An analysis of nucleotide sequences of plasmid and chromosomal DNAs of streptomycetes (publicly available Internet base GenBank, NCBI server) was carried out. The sequences were aligned using BLASTN (NCBI server). We determined prevalence in streptomycetes genomes of sequences encoding chitinolytic enzymes and established degree of similarity of their primary structures to the *S. coelicolor* A3(2) chi-genes. Sequences similar to those of *S. coelicolor* A3(2) chi-genes are widespread in streptomycete genomes. However, the number of such sequences varies in significant range: from the similarity of 11 studied genes to the similarity of the syquevens of 1 gene. Most often, sequences similar to the sequences of certain genes from the subfamily GH18A (chiC, chiD) and GH18B (chiA, chiB) are found. It is shown that degree of similarity of primary structures of obligatory genes (for example, 16S rRNA) correlates with degree of similarity of additional genes (chitinase genes). The possibility of using the analysis of chi-gene sequences for classification of streptomycetes (along with traditsial genetic and phenotypic characteristics) is shown. Strains of streptomycetes, which are the most promising sources of chitinolytic enzymes, have been found to be members of the *S. albidoflavus* group. **Key words:** chitinase, streptomycetes, chi-gene, degree of identity.

Постановка проблеми. Хітин є однією з найпоширеніших органічних сполук в природі. Він синтезується організмами різочими темпами – приблизно по 10^{10} – 10^{11} тон на рік. Однак не спостерігається кількісно значущого довгострокового накопичення хітину в природі, що є наслідком його ефективної деградації. Ензими, що ферментують хітин виявляються у різноманітних організмів, таких як гриби, бактерії, ракоподібні, комахи, деякі водорості, а також у рослин та в травних трактах вищих тварин [1]. Як вважають, бактерії є основними виконавцями деградації хітину в природі – показано, що у ґрунтових системах активність гідролізу хітинів

корелюють з чисельністю бактерій [1,2]. Головною проблемою, яка вирішувалася при проведенні представленої роботи було визначення поширеності в хромосомах стрептоміцетів послідовностей, що кодують хітинолітичні ензими.

Актуальність досліджень. Мікробні хітинази руйнують стінки клітин багатьох шкідників і патогенів, тим самим проявляють антибактеріальну, протигрибкову, інсектицидну або антигельмінтну активність [3]. Хітинолітичні ферменти – це можливе рішення подолання небезпеки для екології й здоров'я людей, що є результатом застосування синтетичних пестицидів, гербіцидів, інсектицидів

і фунгіцидів [4]. Зокрема очищені хітинази *S. rimosus* та *S. viridificans* проявляли протигрибкові властивості *in vitro* проти *Fusarium solani*, *Alternaria alternata* та *Rhizoctonia*, *Colletotrichum*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Sclerotinia*, *Curvularia*, *Pythium* [5, 6].

Зв'язок авторського доробку із важливими науковими та практичними завданнями. Встановлено, що понад половина геномів бактерій (57%), у яких було виявлено хітинази, є геномами актинобактерій [7]. Хітинолітична активність виявлена у представників багатьох видів стрептоміцетів *S. lividans*, *S. thermoviolaceus* and *S. coelicolor*, *S. rimosus*, *S. cavourensis*, *S. Hygroscopicus*, *S. viridodidasticus*, *S. viridificans*, *S. roseolus* [6, 8–12]. Найбільш вивченими є хітинази штаму *S. coelicolor* A3(2) [12]. За даними літератури, у штаму *S. coelicolor* A3(2) виявлено більш ніж десяток генів, які кодують хітинази. Метою нашої роботи було визначити поширеність в геномах стрептоміцетів послідовностей, що кодують хітинази та встановити їх подібність сиквенсам *chi*-генів *S. coelicolor* A3(2).

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Хітинолітичні ферменти належать до різних підродин 2 родин глікозил гідролаз і відрізняються не тільки амінокислотною послідовністю, але й третинною структурою. Оскільки ферменти з родин GH18 і GH19 не мають схожості амінокислотних послідовностей, 3D-структур або механізмів дії, вважають що вони еволюціонували незалежно [13]. На основі аналізу первинних структур, хітинази родини GH19 в актинобактеріях подібні хітиназам IV класу GH рослин. Як вважають, вони виникли як рослинні хітинази і бактерії отримали їх в наслідок горизонтальної передачі генів [14]. Повідомляється, що низка актиноміцетів містять хітинази з родини GH19 [15], часто в поєднанні з хітиназами, що віднесені до родини GH18. Встановлено, що початково предок *Streptomyces* отримав хітиназу від рослин, а у надалі став джерелом генів для інших актинобактерій [15]. Однак хітинолітичні ензими представників роду *Streptomyces* вивчені найбільше. Було встановлено, що ряд *chi*-генів *Streptomyces* утворилися в наслідок дуплікації. Так доведено, що пари генів як *chiA* та *chiB*, так і *chiC* та *chiD* штаму *S. coelicolor* A3(2) мали спільних попередників [16].

Новизна. Визначалася поширеність в геномах стрептоміцетів послідовностей, що кодують хітинолітичні ензими та визначена подібність їх первинних структур *chi*-генам штаму *S. coelicolor* A3(2). Показано, що сиквенси хітиназних генів стрептоміцетів можуть бути корисними в класифікації мікроорганізмів додатково до генетичних та фенотипових характеристик, що вже використовуються.

Методологічне або загальнонаукове значення. В результаті аналізу отриманих даних було виявлено ряд тенденцій, що мають загальнонаукове значення. Показано, що послідовності, що подібні сиквенсам хітинолітичних генів *S. coelicolor* A3(2) широко

поширені в геномах стрептоміцетів. Показано, що подібність первинних структур обов'язкових генів (на прикладі 16S рРНК) корелює з подібністю додаткових генів (хітиназні гени, кластери *crt*-генів).

Викладення основного матеріалу. В роботі користувалися загально доступними Інтернет базами даних сервера NCBI: «Nucleotide collection» [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/]. Був проведений аналіз частини бази «Nucleotide collection», що містить інформацію про нуклеотидну будову ДНК стрептоміцетів (taxid:1883). Вирівнювання послідовностей проводилося із застосуванням пакета програм BLAST з цього ж сервера [http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi].

В якості референсних сиквенсів у BLASTN-аналізі використовували нуклеотидні послідовності 11 хітиназних генів *S. coelicolor* A3(2): GH18A – SCO5376 (*chiC*), SCO1429 (*chiD*), SCO5954 (*chiE*), SCO1444 (*chiI*); GH18C – SCO6012 (*chiH*), SCO5954 (*chiE*), GH18B – SCO5003 (*chiA*), SCO5673 (*chiB*), SCO2503 (*chiJ*); GH19 – SCO7263 (*chiF*), SCO0482 (*chiG*).

Проведений BLASTN-аналіз нуклеотидних послідовностей стрептоміцетів в базах даних GenBank виявив значну поширеність сиквенсів, подібних сиквенсам 11 хітиназних генів *S. coelicolor* A3(2). Загалом було виявлено такі послідовності у понад 300 штамів стрептоміцетів. У вибірці були представлені як повні сиквенси хромосом, так і фрагменти послідовностей генів. Так при використанні в якості референсного сиквенсу сумарної послідовності 11 хітиназних генів було виявлено 542 послідовності (hits) 377 стрептоміцетів, однак ми брали до уваги тільки результати аналізу повністю визначених первинних структур хромосом. Майже половина стрептоміцетів (48,7%) з вибірки не визначена до виду. Частина видів стрептоміцетів з них (8,8%) належала до 5 клад (*S. violaceusniger*, *S. griseus*, *S. albidoflavus*, *S. rochei*, *S. aurantiacus*),

Було встановлено, що в хромосомах тільки незначної кількості (2,8%) стрептоміцетів присутні послідовності, подібні сиквенсам усіх 11 референсних *chi*-генів – наприклад *S. lividans* TK23, *Streptomyces* sp. V 17-9 та кількох інших (рис. 1). На рис. 1 наведено результати BLASTN-аналізу баз даних GenBank з використанням в якості референсної послідовності (Query Sequence) послідовності 11 *chi*-генів *S. coelicolor* A3(2). В хромосомах ряду штамів представлені послідовності, подібні одному певному гену – наприклад штами *Streptomyces* sp. SCSIO 3032, *Streptomyces* sp. SCSIO 64649, *Streptomyces* sp. ST1015 містять послідовності зі значними показниками подібності до *chiG*, *chiA*, *chiF* генів *S. coelicolor* A3(2) відповідно. Встановлено, що найбільш поширеними є послідовності, що подібні сиквенсам генів, які кодують ферменти з субродин хітиназ GH18A (*ChiC*, *ChiD*) чи GH18B (*ChiA*, *ChiB*). Найрідше виявляються гени, що кодують ензими з субродини GH18 (*ChiH*, *ChiK*) та субродини GH18A (*ChiE*). Як

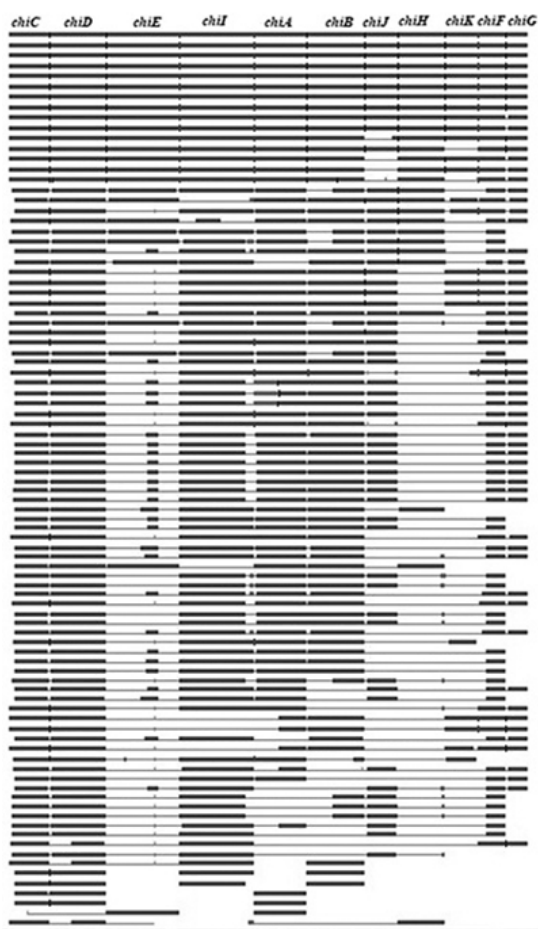


Рис. 1. Присутність в геномах стрептоміцетів послідовностей, які подібні сиквенсам *chi*-генів *S. coelicolor* A3(2) (верхня лінія Query Sequence)

встановлено BLASTN-аналізом (megablast) послідовності, подібні за структурою сиквенсам референсних *chiH*, *chiK* і *chiE* генів зустрічаються відповідно у 21,6%, 11,8% і 22,8% геномів стрептоміцетів. В той час, як послідовності, подібні сиквенсу генів *chiD* чи *chiA* присутні майже у всіх стрептоміцетів сукупності (відповідно у 96,5% та 92,2%).

Встановлено, що хітиназні гени у стрептоміцетів мають як хромосомну, так і плазмідну локалізацію. На приклад в геномах *S. cattleya* DSM 46488 та *S. cattleya* NRRL 8057 представлені хітиназні гени, які локалізовані, як на хромосомах, так і на плазмідах. Так в геномі *S. cattleya* NRRL 8057 виявлені хромосомні гени SCAT_3874, SCAT_0301, SCAT_5639/5640 та плазмідний SCAT_p0279 (pSCAT), що подібні референсним генам *S. coelicolor* A3(2) *chiA*, *chiH*, *chiE*, *chiJ* відповідно. В плазмідах виявлено послідовності як одного певного гена – наприклад гену *chiI* на плазміді p3 штама *Streptomyces sp.* SAT1 чи гену *chiI* на плазміді pF1D35B штаму *S. clavuligerus* F1D35. В первинній структурі плазміді p1 (*Streptomyces sp.* BHT-5-2) містить послідовності, що подібні 5 референсним генам (*chiC*, *chiD*, *chiJ*, *chiF*, *chiG*).

Необхідно зазначити, що певні штами містили тільки один з 2 ферментів з GH18C субгрупи: наприклад у штамів *Streptomyces sp.* CB09001, *Streptomyces sp.* SYP-A7193, *Streptomyces sp.* WAC8241, *S. venezuela* ATCC14584 та ряду інших були виявлені послідовності, подібні *chiH*, а у штамів *Streptomyces sp.* WAC06273, *Streptomyces sp.* SGAir0924, *Streptomyces sp.* SS52, *Streptomyces sp.* A144 та ряду інших були виявлені тільки послідовності, подібні *chiK*. Показано, що у значної кількості (46,1%) штамів не виявлено послідовності, подібні жодному з цих генів.

Як повідомлено вище, тільки геноми 7 штамів (*S. coelicolor* M1154, *S. coelicolor* JCM 4020, *S. lividans* TK23, *S. lividans* TK24, *Streptomyces sp.* V17-9, *Streptomyces sp.* 2114.2, *Streptomyces sp.* BSE6.1) містили послідовності, подібні референсним сиквенсам всім 11 хітиназних генів *S. coelicolor* A3(2) (табл. 1). В таблиці представлені показники подібності сиквесів: ідентичність (I – Identity), розмір ідентичних ділянок (Qc – Query cover). Зірочкою (*) відмічено членів *S. albidoflavus* клади.

Ми вважали важливим проаналізувати генетичну спорідненість цих стрептоміцетів. Штами *S. coelicolor* M1154 *S. coelicolor* JCM 4020, як і *S. coelicolor* A3(2) є членами *S. albidoflavus* групи. Також повідомлено про близьку генетичну спорідненість стрептоміцетів видів *S. coelicolor* та *S. lividans* [15]. У базі даних Taxonomy на сервері NCBI до *S. albidoflavus* клади (taxid :1477431), крім виду *S. coelicolor*, відносять ще 7 видів (*S. albidoflavus*, *S. canescens*, *S. champavatii*, *S. felleu*, *S. limosus*, *S. odorifer*, *S. sampsonii*). Було вирішено, з іншого боку, дослідити встановити поширеність хітиназних генів в геномах інших стрептоміцетів цієї ж клади та подібність їх організації (табл. 1). Загалом в базах даних представлено сиквенси 64 штамів цієї клади, однак первинна структура хромосомних ДНК тільки 10 штамів.

Відомо, що ідентичність сиквенсів 16S рРНК у штамів, що належать до однієї клади не нижче 98,7%. Найменші показники подібності сиквенсів 16S рРНК штамів *Streptomyces sp.* BSE6.1 та *Streptomyces sp.* V17-9 і референсної *S. coelicolor* A3(2) становлять понад 98,8% (табл. 1).

На базі отриманих результатів подібності первинних структур 16S рРНК генів штамів стрептоміцетів до сиквенсу 16S рРНК гену *S. coelicolor* A3(2) (таблиці 1) побудовано дендрограму спорідненості штамів стрептоміцетів (рис. 2).

Встановлено, що показники покриття послідовностей геномів 7 штамів з клади значно відрізняються від показників інших штамів (табл. 2). Позначення показників подібності сиквесів в таблиці 2 ті ж, що і в таблиці 1. Крім того, в таблиці 2 відмічено у яких штамів послідовностей не виявлено (Н) чи виявлено окремі фрагменти послідовності, що подібні референсному гену (Ф).

Було проведено визначення показників подібності первинних структур хромосом ряду стрептоміцетів

Подібність референсним сиквенсам *S. coelicolor* A3(2) послідовностей хромосом ряду стрептоміцетів з сукупності

Штами стрептоміцетів	Показники ідентичності послідовностей ДНК стрептоміцетів та референсних сиквенсів	
	сумарний сиквенс 11 <i>chi</i> -генів	16S рРНК
<i>S. coelicolor</i> M1154 *	Qc=100%, I=100%	Qc=100%, I=100%
<i>S. coelicolor</i> JCM 4020 *	Qc=100%, I=99,33%	Qc=100%, I=99,93%
<i>S. lividans</i> TK23 *	Qc=100%, I=99,50%	Qc=100%, I=99,93%
<i>S. lividans</i> TK24 *	Qc=100%, I=99,50%	Qc=100%, I=99,93%
<i>Streptomyces</i> sp. V17-9	Qc=99%, I=95,31%	Qc=100%, I=98,83%
<i>Streptomyces</i> sp. 2114.2	Qc=100%, I=99,50%	Qc=100%, I=99,93%
<i>Streptomyces</i> sp. BSE6.1	Qc=99%, I=95,04%	Qc=99%, I=98,88%
<i>S. albidoflavus</i> W68 *	Qc=50%, I=84,04%	Qc=98%, I=97,25%
<i>S. albidoflavus</i> UYFA156 *	Qc=50%, I=84,32%	Qc=99%, I=97,27%
<i>S. albidoflavus</i> J1074 *	Qc=48%, I=84,09%	Qc=99%, I=97,28%
<i>S. albidoflavus</i> LGO A16 *	Qc=49%, I=83,82%	Qc=99%, I=97,28%
<i>S. sampsonii</i> KJ140 *	Qc=48%, I=83,99%	Qc=99%, I=97,34%
<i>S. albidoflavus</i> LGO_A23 *	Qc=49%, I=97,28%	Qc=99%, I=97,28%
<i>S. albidoflavus</i> SM254 *	Qc=49%, I=83,82%	Qc=99%, I=97,28%

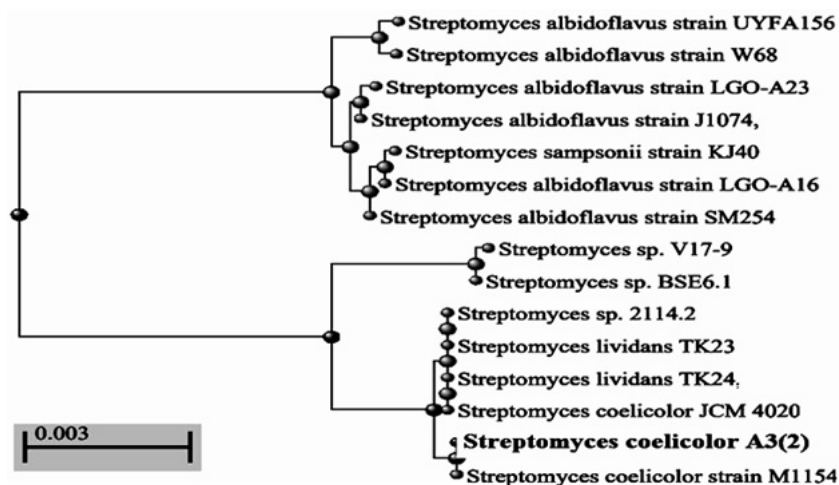


Рис. 2. Дендрограма спорідненості первинних структур 16S рРНК генів штамів стрептоміцетів. Сиквенс 16S рРНК *S. coelicolor* A3(2) – Query Sequence

(як традиційних представників групи, так і вірогідних) сиквенсам 5 референсним генів *S. coelicolor* A3(2), що кодують хітинази, які належать до різних субродин глікозид гідрогеназ (табл. 2).

Було побудовано дендрограми спорідненості штамів, що базуються на подібності структур *chi*-генів, які детермінують хітинази штаму *S. coelicolor* A3(2). На Рис. 3 представлено дендрограми сукупності з 14 штамів, що зображено подібність *chiA* і *chiD*. Спостерігали, що штами утворюють аналогічні кластери в дендрограмах інших генів (*chiC*, *chiB*, *chiG*, *chiF*).

Проведено дослідження генетичної спорідненості цих стрептоміцетів. Показники ідентичності сиквенсів 16S рРНК штамів *Streptomyces* sp. BSE6.1 та *Streptomyces* sp. V17-9 і референсної *S. coe-*

licolor A3(2) дозволяють вважати, що досліджені штами є генетично спорідненими і можуть належати до однієї класи з *S. coelicolor* A3(2) (*S. albidoflavus* групи).

Завдяки проведеному BLASTN-аналізу послідовностей 9 стрептоміцетів з *S. albidoflavus* класи встановлено, що геноми штамів класи відрізняються по наявності в них послідовностей, подібних сиквенсам *chi*-генів *S. coelicolor* A3(2) (Рис. 3). Показано, що первинні структури локусів *chi*-генів хромосом стрептоміцетів видів *S. albidoflavus* (6 штамів) та *S. sampsonii* (1 штама) мають значно меншу подібність (а саме позначки покриття Query cover) сиквенсам референсних хітиназних генів *S. coelicolor* A3(2) так, як містять послідовності, що подібні сиквенсам тільки 7 з 11 референсних *chi*-генів.

Таблиця 2

Подібність нуклеотидних послідовностей ряду стрептоміцетів сиквенсам кількох референсним генів *S. coelicolor* A3(2)

Штами Streptomyces	Показники ідентичності послідовностей ДНК 14 стрептоміцетів сиквенсам референсним <i>chi</i> генів				
	chiC	chiE	chiA	chiK	chiG
<i>S. coelicolor</i> M1154	Qc=100% I=100%	Qc=100% I=100%	Qc=100% I=100%	Qc=100% I=100%	Qc=100% I=100%
<i>S. coelicolor</i> JCM 4020	Qc=100% I=99,89%	Qc=100% I=99,39%	Qc=100% I= 99.13%	Qc=100% I= 99.50%	Qc=100% I=99,93%
<i>S. lividans</i> TK23	Qc=100% I=99,84%	Qc=100% I=99,83%	Qc=100% I= 99.48%	Qc=100% I= 99.00%	Qc=100% I=100
<i>S. lividans</i> TK24	Qc=100% I=99,84%	Qc=100% I=99,83%	Qc=100% I= 99.48%	Qc=100% I= 99.00%	Qc=100% I=100%
<i>Streptomyces</i> sp. V17-9	Qc=99% I=97,32%	Qc=100% I=94.01%	Qc=100% I= 94.18%	Qc=100% I= 88.68%	Qc=82% I= 86.96%
<i>Streptomyces</i> sp. 2114.2	Qc=100% I=99,95%	Qc=100% I=99,52%	Qc=100% I= 99.53%	Qc=100% I= 99.00%	Qc=100% I=100%
<i>Streptomyces</i> sp. BSE6.1	Qc=99% I=97,10%	Qc=100% I=93.87%	Qc=99% I= 94.31%	Qc=100% I= 88.78%	Qc=82% I=87.13%
<i>S. albidoflavus</i> W68	Qc=97% I=84.82%	Φ	Qc=51% I= 80.66%	H	Qc=79% I=100%
<i>S. albidoflavus</i> UYFA156	Qc=97% I=99.95%	Φ	Qc=51% I= 80.54%	H	Qc=82%, I= 82.96%
<i>S. albidoflavus</i> J1074	Qc=97% I=84.65%	Φ	Qc=51% I= 80.32%	H	Qc=55% I= 81.71%
<i>S. albidoflavus</i> LGO_A16	Qc=97% I=84.49%	Φ	Qc=51% I= 80.43%	H	Qc=75% I= 83.45%
<i>S. sampsonii</i> KJ140	Qc=97% I= 84.65%	Φ	Qc=51% I= 80.43%	H	Qc=75% I= 83.63%
<i>S. albidoflavus</i> LGO_A23	Qc=97% I=84.49%	Φ	Qc=51% I= 80.43%	H	Qc=75, I= 83.45%
<i>S. albidoflavus</i> SM254	Qc=97% I=84.54%	Φ	Qc=50% I= 80.41%	H	Qc=79%, I= 82.71%

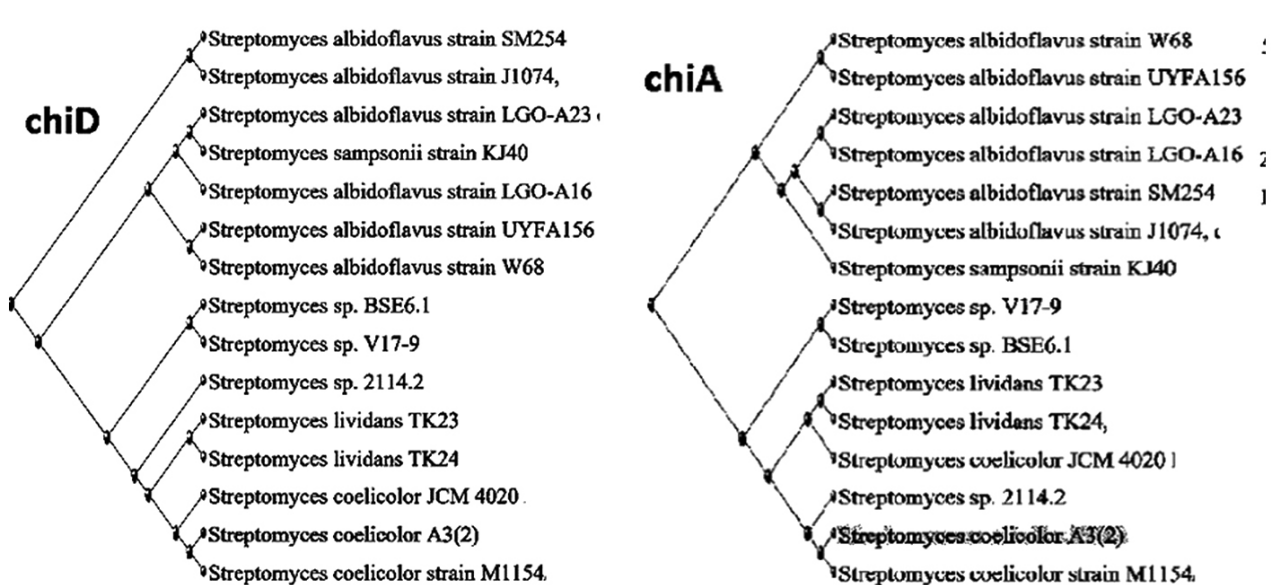


Рис. 3. Дендрограми спорідненості штамів стрептоміцетів, які базуються на подібності первинних структур хітинолітичних генів/ Сиквенси *chi*-генів *S. coelicolor* A3(2) – Query Sequence

Виявлено, що показники ідентичності сиквенсів 16S рРНК генів стрептоміцетів з видів *S. albidoflavus* (6 штамів) та *S. sampsonii* (1 штамі) і 16S рРНК *S. coelicolor* A3(2) нижчий від 97,4% (таблиця 2б, рис. 2). Вказані вище штамі також утворюють окрему гілку дендрограм подібності хітиназних генів (рис. 3).

Головні висновки. Послідовності, що подібні сиквенсам 11 *chi*-генів *S. coelicolor* A3(2) широко поширені в геномах стрептоміцетів. Такі послідовності мають як хромосомну, так і плазмідну локалізацію. Однак, в геномах штамів кількість послідовностей, що подібні сиквенсам референсних *chi*-генів варіює в значному діапазоні: від подібності сиквенсам 11 досліджених генів до подібності сиквенсу 1 гена. В геномах стрептоміцетів найчастіше вияв-

ляються послідовності, подібні сиквенсам кількох генів з підродин GH18A (*chiC*, *chiD*) та GH18B (*chiA*, *chiB*). Показано, що зміни в первинній структурі обов'язкових генів (на прикладі 16S рРНК) корелює з відмінностями в додаткових генах (хітиназні гени, кластери *src*-генів).

Перспективи використання результатів дослідження. Показано можливість використання аналізу послідовностей *chi*-генів для класифікації стрептоміцетів (на ряду з традиційними генетичними та фенотиповими характеристиками) завдяки виявленню кореляції змін сиквенсів обов'язкових та додаткових генів. Виявлено, що штамі стрептоміцетів, які є найперспективнішими джерелами хітинолітичних ензимів є членами *S. albidoflavus* групи.

Література

- Veliz E.A., Martínez-Hidalgo P., Hirsch A.M. Chitinase-producing bacteria and their role in biocontrol. *AIMS Microbiology*. 2017. Vol 3, № 3. P. 689–705. DOI: 10.3934/microbiol.2017.3.689
- Kielak A. M., Cretoiu M. S., Semenov A. V., Sorensen S. J., van Elsland J. D. Bacterial chitinolytic communities respond to chitin and pH alteration in soil. *Applied and Environmental Microbiology*. 2013. Vol 79, № 1. P. 263–272. DOI: 10.1128/AEM.02546-12
- Edreva A. Pathogenesis-related proteins: research progress in the last 15 years. *General and Applied Plant Physiology*. 2005. Vol. 31. № 1–2. P. 105–124.
- Esteban A. Veliz E.V, Martínez-Hidalgo P., Hirsch A.M. Chitinase-producing bacteria and their role in biocontrol. *AIMS Microbiology*. 2017, Vol. 3, № 3. P. 689–705. DOI: 10.3934/microbiol.2017.3.689
- Brzezinska MS, Jankiewicz U, Walczak M. Biodegradation of chitinous substances and chitinase production by the soil actinomycete *Streptomyces rimosus* International Biodeterioration and Biodegradation. 2013. № 84. P. 104–110. <http://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.05.038>
- Gupta R., Saxena R.K., Chaturvedi P., Virdi J.S. Chitinase production by *Streptomyces viridificans*: its potential in fungal cell wall lysis. *The Journal of applied bacteriology*. 1995. Vol. 78. № 4. P. 378–383. doi: 10.1111/j.1365-2672.1995.tb03421.x
- Barka E.A., Vatsa P., Sanchez L., Gaveau-Vaillant N., Jacquard C., Meier-Kolthoff J.P., Klenk H.P., Clément C., Ouhdouch Y., van Wezel G.P. Taxonomy, physiology, and natural products of actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2016. Vol. 80. № 1. P. 1–43. doi: 10.1128/MMBR.00019-15
- Saito A, Fujii T, Yoneyama T, Miyashita K. *glkA* is involved in glucose repression of chitinase production in *Streptomyces lividans*. *The Journal of bacteriology*. 1998. № 180. № 11. P. 2911–2914. doi: 10.1128/JB.180.11.2911-2914.1998
- Xiayun J., Chen D., Shenle H. Identification, characterization and functional analysis of a GH-18 chitinase from *Streptomyces roseolus*. *Carbohydrate polymers*. 2012. № 87. № 4. P. 2409–2415. doi:10.1016/j.carbpol.2011.11.008
- Brzezinska MS, Jankiewicz U, Walczak M. Biodegradation of chitinous substances and chitinase production by the soil actinomycete *Streptomyces rimosus*. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 2013. Vol. 84. P. 104–110. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.05.038>
- Lee S.Y., Tindwa H., Lee Y.S., Naing K.W., Hong S.H., Nam Y., Kim K.Y Biocontrol of anthracnose in pepper using chitinase, beta-1, 3 glucanase, and 2-furancarboxaldehyde produced by *Streptomyces cavourensis* SY224. *The Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2012. Vol. 22. № 10. P. 1359–1366. doi: 10.4014/jmb.1203.02056
- Kawase T, Yokokawa S, Saito A, Fujii T, Nikaidou N., Miyashita K., Watanabe T. Comparison of enzymatic and antifungal properties between family 18 and 19 chitinases from *S. coelicolor* A3(2). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2006. Vol. 70. № 4. P. 988–998. doi: 10.1271/bbb.70.988
- Dahiya N., Tewari R., Hoondal G.S. Biotechnological aspects of chitinolytic enzymes: a review. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2006. Vol. 71. № 6. P. 773–782. doi: 10.1007/s00253-005-0183-7
- Prakash N.A.U., Jayanthi M., Sabarinathan R., Sabarinathan R., Kanguane P., Mathew L., Sekar K. Evolution, homology conservation, and identification of unique sequence signatures in GH19 family chitinases. *Journal of Molecular Evolution*. 2010. Vol. 70. № 5. P. 466–478. DOI: 10.1007/s00239-010-9345-z
- Monson A.M., Bradley S.G., Enquist L.W., Cruces G.J. Genetic homologies among *Streptomyces violaceoruber* strains. *Bacteriology*. 1969. Vol. 99, № 3. P. 702–706. DOI: 10.1128/jb.99.3.702-706.1969
- Saito A., Fujii T., Miyashita K. Distribution and evolution of chitinase genes in *Streptomyces* species: involvement of gene-duplication and domain-deletion. *Antonie van Leeuwenhoek* 2003. Vol. 84. No 7. P. 7–16. <https://doi.org/10.1023/A:1024463113606>