

ПОШИРЕНІСТЬ ХІТИНАЗ GH19 У СТРЕПТОМІЦЕТІВ З *STREPTOMYCES GRISEUS* КЛАДИ ТА ВІДМІННОСТІ ЇХ ОРГАНІЗАЦІЙ

Поліщук Л.В.

Інститут мікробіології і вірусології НАН 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, завдяки деструкції хітиназами головним чином. Хітинолітичні ферменти вважають можливою заміною синтетичним пестицидами, гербіцидами, інсектицидами і фунгіцидами. Наприклад хітинази стрептоміцетів з родини GH19 є перспективними фунгіцидами. Штам *Streptomyces griseus* HUT 6037 є першим стрептоміцетом, у якого виявлено хітиназу GH19. Метою нашої роботи було визначити поширеність в геномах стрептоміцетів з *S. griseus* клади генів, що детермінують хітинази GH19 та визначити відмінності молекулярної організації вказаних ензимів. Встановлено, що в геномах стрептоміцетів з *S. griseus* групи здебільше присутні по 2 *chi*-гени, що детермінують хітинази з родини GH19. Як правило, хітинази стрептоміцетів з *S. griseus* групи містять домен зв'язування хітину. Показано, що в хітиназах GH19 стрептоміцетів з *S. griseus* групи присутні ChtBD3 трьох різних моделей. Встановлено, що у організмів з досліджуваної вибірки стрептоміцетів хітинази з доменами моделей CDD:213175 та CDD:213178 значно поширеніші ніж ферменти з доменами моделей CDD:444668. Встановлено, що будова доменів зв'язування хітиназ може слугувати додатковим показником визначення генетичної спорідненості стрептоміцетів. Показники ідентичності більшості 16S рРНК генів штамів стрептоміцетів досліджуваної вибірки були вищими потрібного мінімуму – 98,7%. Однак показники ідентичності нижчі мінімального значення були виявлені у ряду штамів виду *S. griseus* (NCTC7807 (I=96,6), WC 3645 (I=97,4%), NRRL B-2621 (I=97,6%)). Як повідомлено вище, у цих стрептоміцетів було виявлено певні відмінності в наявності чи будові хітиназ (зокрема доменів зв'язування). Показано, що штами стрептоміцетів *S. griseus* групи є перспективними джерелами хітинолітичних ензимів з різною організацією молекул. *Ключові слова:* стрептоміцет, *chi*-ген, ідентичність, хітиназа, ідентичність.

Prevalence of chitinases GH19 in streptomycetes from *Streptomyces griseus* clades and differences in their organizations.
Polishchuk L.

Chitin is one of the most common organic compounds in nature. However, no significant accumulation of it is observed, mainly due to destruction by chitinases. Chitinolytic enzymes are considered a possible replacement for synthetic pesticides, herbicides, insecticides and fungicides. For example, streptomycete chitinases from the GH19 family are promising fungicides. The strain *Streptomyces griseus* HUT 6037 is the first streptomycete in which GH19 chitinase was identified. The aim of our work was to determine the prevalence in the genomes of streptomycetes from *S. griseus* of the clade of genes that determine GH19 chitinases and to determine differences in the molecular organization of these enzymes. It was established that in the genomes of streptomycetes from the *S. griseus* group there are mostly 2 *chi*-genes that determine chitinases from the GH19 family. As a rule, chitinases of streptomycetes from the *S. griseus* group contain a chitin-binding domain. It was shown that ChtBD3 of three different models are present in GH19 chitinases of streptomycetes from the *S. griseus* group. It was established that chitinases with domains of models CDD:213175 and CDD:213178 are much more common in organisms from the studied sample of streptomycetes than enzymes with domains of model CDD:444668. It was established that the structure of chitinases binding domains can serve as an additional indicator for determining the genetic kinship of streptomycetes. Indicators of identity of the majority of 16S rRNA genes of streptomycete of the studied set off strains were higher than the required minimum – 98.7%. However, identity values lower than the minimum value were found in a number of strains of the *S. griseus* species (NCTC7807 (I=96.6), WC 3645 (I=97.4%), NRRL B-2621 (I=97.6%)). As reported above, certain differences in the presence or structure of chitinases (in particular binding domains) were revealed in these streptomycetes. It is shown that strains of streptomycetes of the *S. griseus* group are promising sources of chitinolytic enzymes with different molecular organization. *Key words:* streptomycete, *chi*-gene, identity, chitinase.

Постановка проблеми. Хітин – другий за поширеністю (після целюлози) природний полісахарид. Він є основним компонентом екзоскелету членистоногих, міститься в клітинних стінках грибів. Також хітин утворюється в організмах багатьох інших тварин — різноманітних безхребетних, кишковопорожнинних та ін тварин. Хітин синтезується більш ніж по 10 гігатон у рік. Однак, завдяки його ефективній

деградації, не спостерігається катастрофічного накопичення хітину в природі. Ензими, що ферментують хітин виявлені у організмів, як синтезуючих сполуку, так і у мікроорганізмів, рослин та тварин, які не синтезують хітин [1]. Однак вважають, що основними деструкторами хітину в природі є бактерії – встановлено, що у ґрунтах активність гідролізу хітинів корелює з чисельністю в них бактерій [1, 2].

Мікробні хітинази руйнують стінки клітин багатьох шкідників і патогенів, тим самим проявляють антибактеріальну, антифунгальну, інсектицидну та антигельмінтну активність [3]. Хітинолітичні ферменти – це можливе рішення подолання небезпеки для навколишнього середовища та здоров'я людей, що є результатом застосування синтетичних пестицидів, гербіцидів, інсектицидів і фунгіцидів [4]. Доведено, що препарати хітиназ *S. grimosus* та *S. viridificans* мають протигрибкову властивість *in vitro* проти фітопатогенів *Alternaria*, *Rhizoctonia*, *Colletotrichum*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Sclerotinia*, *Curvularia* та *Pythium* [5,6].

Зв'язок авторського доробку із важливими науковими та практичними завданнями. Хітиназа C (ChiC) *Streptomyces griseus* HUT6037, яка описана в 1996 році, є першою з родини GH19 хітиназ зі знайдених в організмі, відмінному від вищих рослин [7]. Вивчена не тільки первинна та третинна структури молекули хітинази ChiC *S. griseus* HUT6037 (BAA23739.1, 294 а.к.), її каталітична активність, так і нуклеотидна послідовність та організація chiC-гену (посилання AV009289.1, 264 п.н – 1148 п.н.).

Вид *S. griseus* відносять до *S. griseus* клади (таксономічної групи найнижчої ієрархії стрептоміцетів), яка є найчисельнішою та найкраще вивченою групою стрептоміцетів. Метою нашої роботи було визначити поширеність в геномах стрептоміцетів з *S. griseus* клади генів, що детермінують хітинази GH19 та визначити відмінності молекулярної організації вказаних ензимів.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Хітинолітичні ферменти належать до різних підродин 2 родин глікозил гідролаз (GH18 і GH19) 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 виникли та еволюціонували незалежно [8]. Повідомляється, що низка актиноміцетів містять хітинази з обох родин [9, 10]

одночасно. Однак повідомляють, що саме хітинази родини GH19 мають більшу, ніж хітинази родини GH18, мають антифунгальну активність [9].

Базуючись на результатах аналізу первинних структур, доведено, що хітинази родини GH19 в актинобактеріях подібні хітиназам IV класу GH рослин. Як вважають, вони виникли як рослинні хітинази, а бактерії отримали їх в наслідок горизонтальної передачі генів [11]. Встановлено, що початково предок *Streptomycineae* отримав хітиназу від рослин, а надалі став джерелом генів для інших мікроорганізмів [12, 13]. Однак хітинолітичні ензими представників роду *Streptomyces* вивчені найбільше. Була продемонстрована загальна поширеність хітиназ родини GH19 у низки видів стрептоміцетів (*S. griseus* HUT 6073, *S. coelicolor* A3(2), *S. lividans* 66, *S. scabies* MAFF4018, *S. plicatus* ATCC 2548 та багатьох інших) [13]. Хітинази штаму *S. coelicolor* A3(2) (особливо *chiG* та *chiF* з родини GH19) є найбільш ретельно вивченими хітиназами стрептоміцетів. Встановлено, що організація молекул (схема А) хітиназ *ChiC S. griseus* HUT 6073 та *ChiF S. coelicolor* A3(2) тотожні (рис. 1).

Новизна. Визначалася поширеність в геномах стрептоміцетів з *S. griseus* групи генів, що кодують хітинази GH19 та встановлена відмінність організації молекул ферментів. Показана, що в молекулах хітиназ GH19 стрептоміцетів з *S. griseus* групи присутні ChtBD3 різних моделей (CDD:444668, CDD:213175, CDD:213178). На прикладі мікроорганізмів членів *S. griseus* групи показано, що

що будова доменів зв'язування хітиназ може слугувати додатковим показником визначення генетичної спорідненості стрептоміцетів.

Методологічне або загальнонаукове значення. В результаті аналізу отриманих даних було виявлено ряд тенденцій, що мають загальнонаукове значення. Встановлено, що хітинази GH19 досліджених стрептоміцетів з *S. griseus* групи в переважній більшості мають однакову організацію молекул – схема А (рис. 1). Доведено, що в хітиназах GH19 стрептоміцетів з *S. griseus* групи присутні ChtBD3 трьох різ-

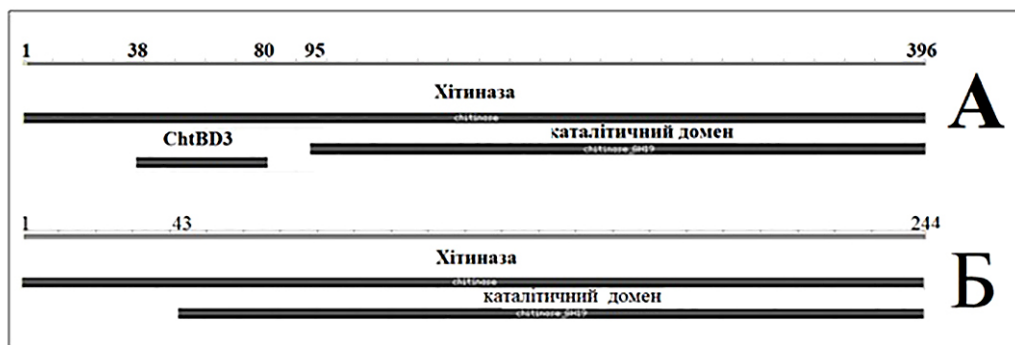


Рис. 1. Організація хітиназ GH19 стрептоміцетів. Схема А – хітинази ChiC та ChiF, схема Б – хітиназа ChiG. Домени: ChtBD3 – N-кінцевий домен зв'язування з хітином, каталітичний домен – C-кінцевий домен, що здійснює деградацію хітину

них моделей. Встановлено, що у організмів з досліджуваної вибірки хітинази з доменами моделей CDD:213175 та CDD:213178 значно поширеніші ніж ферменти з доменами моделей CDD:444668.

Викладення основного матеріалу. Найбільш відомими та дослідженими хітиназами з родини GH19 є хітинази ChiC (*S. griseus* HUT 6037), ChiF і ChiG (*S. coelicolor* A3(2)) (Таблиця 1). Хітинази ChiC (BAA23739.1, GenBank) та ChiF (WP_011031550.1) складаються з N-кінцевого домену, що зв'язується з хітином надродини хітин/целюлозо зв'язуючих доменів хітиназ та пов'язаних ферментів (ChtBD3 – Chitin-binding domain type 3) та C-кінцевого каталітичного домену, що здійснює деградацію хітину (схема А – рис. 1). В ензимі ChiG (WP_011027151.1) відсутній домен ChtBD3 (схема Б – рис. 1). Як відомо, наявність ChtBD3 в будові хітиназ не є обов'язковим для проходження гідролізу хітину. Однак його присутність покращує та оптимізує приєднання субстрату і, таким чином, сприяє його ферментації [12]. Для аналізу подібності та відмінності організації хітиназ необхідно було визначити подібність первинних структур не тільки ферментів, але й їх окремих доменів (табл. 1).

Було виявлено, що амінокислотні послідовності хітиназ ChiF та ChiC мають високі показники подібності (Qc – покриття (Query coverage), I – ідентичність (Identity), P – допустимість (Positive)). Однак не виявлено подібності послідовностей доменів зв'язування цих хітиназ.

Відповідно анотаціям ферментів а базі даних GenBank, домен зв'язування хітинази відрізняються моделями будови – хітиназа ChiF має ідентифікатор (модель) CDD:444668, а домен хітинази ChiC – модель CDD:213175. В зв'язку з тим, що головну відмінність хітиназних генів становить саме послідовність ChtBD3, було вирішено встановити моделі доменів зв'язування генетично споріднених стрептоміцетів з повністю секвенованими геномами на прикладі стрептоміцетів *S. griseus* групи.

В базу даних RefGenome_Database внесено майже 1,5 мільйона нуклеотидних послідовностей стрептоміцетів 23049 видів з родини *Streptomyces*. Депоновано послідовності як цілих хромосом і плазмід, так і контигів, генів, фрагментів окре-

мих генів. Наприклад внесена як послідовність хромосоми *Streptomyces* sp. G1 (14,2 М.п.н. – NZ_JAMOZA0000000.1), плазміди p1 *Streptomyces* sp. BHT-5-2 (2,8 М.п.н. – NZ_CP081497.1), так і структура термінального повтору плазміди SCP1 *S. coelicolor* A3(2) (60 п.н. – S38797.1).

Як відомо, *S. griseus* клади є однією з найчисленніших груп та найбільш всебічно досліджених груп стрептоміцетів. Стрептоміцети цієї класифікації розподіляються на 5 субгруп. В базі даних представлено секвенси майже сотні штамів з *S. griseus* групи. В базах даних GenBank представлено інформацію про первинну структуру цілих геномів стрептоміцетів цієї класифікації, хромосом, плазмід, контигів, скафолдів, генів та інших фрагментів – загалом понад 33 тисячі послідовностей. Однак тільки незначна частина секвенованих геномів визначена повністю (complete genome, chromosome) – *S. griseus* ATCC13273 (NZ_CP032543.1), *S. griseus* NBRC13350 (NC_010572.1), *S. anulatus* VUW1 (NZ_CP080029.1), *S. anulatus* ATCC11523 (NZ_CM003601.1), *S. anulatus* YINM00001 (NZ_CP086102.1), *S. microflavus* DSM40593 (NC_021177.1), *S. microflavus* DF (NZ_CP068598.1), *S. microflavus* NA06532 (NZ_CP054926.1), *S. globisporus* C-1027 (NZ_CP013738.1), *S. globisporus* TFH56 (NZ_CP029361.1), *S. bacillaris* ATCC15855 (NZ_CP029378.1), *Streptomyces* sp. M54 (NZ_CP059898.1), *Streptomyces* sp. ACT-1 (NZ_GL877172.1), *S. griseus* HUT 6037 (AB009289.1)

Було проаналізовано генетичні карти хромосом 13 штамів стрептоміцетів, послідовності яких просеквеновані повністю та визначено наявність генів, які детермінують хітинази з родини GH19 (таблиця 2). Також було визначено моделі доменів зв'язування детермінованих ферментів (таблиця 2).

Завдяки проведеним дослідженням як анотацій геномів мікроорганізмів, так і BLASTN-аналізу їх нуклеотидних послідовностей встановлено, що в хромосомах досліджених стрептоміцетів *S. griseus* класифікації міститься тільки *chi*-гени, що кодуєть глікозидази з родини GH19, які організовані за схемою А (рис. 1).

Крім того, більшість з геномів досліджених стрептоміцетів вибірки містять по 2 *chi*-гени. Винятком є хромосоми 2 штамів виду *S. globisporus*, в яких

Таблиця 1

Подібність амінокислотних послідовностей гідролаз ChiC і ChiF та кремів їх доменів

Хітиназа (Query Sequence)	Показники подібності послідовностей		
	загальних секвенсів ензимів	окремих їх доменів	
		зв'язування	каталітичних
ChiC, BAA23739.1 * 294 а.к.	ChiF	(Subject Sequences)	
	Qc=99%, I=66%, P=76%	–	Qc=100%, I=80%, P=88%
ChiF, WP_011031550.1 * 296 а.к./	ChiC	(Subject Sequences)	
	Qc=98%, I=66%, P=76%	–	Qc=100%, I=80%, P=87%

Хітиназні гени в геномах стрептоміцетів *S. griseus* клади та їх продукти

Штами стрептоміцетів (Subject Sequence)	Номери посилань у базах даних NCB протейнів та генів, що їх кодують		Моделі доменів зв'язування хітиназ
	chiC гени штаму	Хітинази GH19	
<i>S. griseus</i> ATCC13273	D6270_RS15515, D6270_RS02090	WP_109164876.1 WP_109167043.1	CDD:213178 CDD:213178
<i>S. griseus</i> NBRC13350	SGR_RS16840, SGR_RS16835	WP_003967542.1 WP_003967541.1	CDD:213178 CDD:213175
<i>S. anulatus</i> VUW1	KZO11_RS19420, KZO11_RS19415	WP_219611284.1 WP_219611283.1	CDD:213175 CDD:213178
<i>S. anulatus</i> ATCC11523	J176_RS19770, J176_RS19765	WP_050358467.1 WP_056701873.1	CDD:213175 CDD:213178
<i>S. anulatus</i> YINM00001	LK895_RS17335, LK895_RS17340	WP_047177829.1 WP_275672771.1	CDD:213175 CDD:213178
<i>S. microflavus</i> NAO06532	HUT09_RS15670 HUT09_RS00440	WP_031125405.1 WP_015606590.1	CDD:213178 CDD:213178
<i>S. microflavus</i> DF	IFE09_16055, IFE09_00430	WP_031125405.1 QQZ58031.1	CDD:213178 CDD:213178
<i>S. microflavus</i> DSM40593	SFUL_RS16105, SFLU_RS01090	WP_015609542.1 WP_015606590.1	CDD:213178 CDD:213178
<i>S. globisporus</i> C-1027	WQO_RS18700, WQO_RS31255, WQO_RS18695	WP_010063227.1 WP_010064642.1 WP_010063226.1	CDD:213175 CDD:444668 CDD:213178
<i>S. globisporus</i> TFH56	DIJ69_RS15165, DIJ69_RS02395, DIJ69_RS213170	WP_030812869.1 WP_044369170.1 WP_044374610.1	CDD:213175 CDD:444668 CDD:213175
<i>S. bacillaris</i> ATCC15855	DJ476_RS18720, DJ476_RS00675	WP_112491090.1 WP_103420217.1	CDD:213175 Не досліджено
<i>Streptomyces</i> sp. M54	H3V_RS15275, H3V_RS15280	WP_030113441.1 WP_050493520.1	CDD:213175 CDD:213178
<i>Streptomyces</i> sp. ACT_1	SACT1_RS18020, SACT1_RS18025	WP_003967541.1 WP_003967542.1	CDD:213175 CDD:213178
<i>S. griseus</i> HUT 6037	chiC	BAA23739.1	CDD:213175
<i>S. coelicolor</i> A3(2)	chiF (SCO7263) chiG (SCO0482)	WP_011031550.1 WP_011027151.1	CDD:444668

містяться 3 *chi*-гени. Загалом хітинази стрептоміцетів *S. griseus* клади містять домени зв'язування трьох моделей (CDD:444668, CDD:213175, CDD:213178). Показано, що у стрептоміцетів з досліджуваної вибірки хітинази з доменами моделей CDD:213175 та CDD:213178 значно поширеніші ніж ферменти з доменами моделей CDD:444668.

Проведено визначення подібності амінокислотної структури ChtBD3 хітиназ однієї моделі одного стрептоміцета штамів виду *S. microflavus*. Встановлено, що показники подібності секвенсу ChtBD3 хітиназ штаму *S. microflavus* NAO06522 становлять $Q_c=95\%$ $I=56\%$ $P=73\%$, а штаму *S. microflavus* DSM40543 – $Q_c=99\%$ $I=53\%$ $P=73\%$. Первинні структури ChtBD3 хітиназ однієї моделі (CDD:444668) різних штамів (*S. coelicolor* A3(2), *S. globisporus* C-1027 та *S. globisporus* TFH56) є майже такими подібними ($Q_c=97\%$ $I=62\%$ $P=71\%$), як і домени моделі CDD:213178 двох хітиназ одного стрептоміцету (штами виду *S. microflavus*).

Як повідомлено вище, тільки для 2 штамів *S. griseus* структура хромосоми визначена повністю

та побудовано генетичні карти/проведено анотацію хромосоми. Крім того, послідовності низки інших штамів представлені у вигляді фрагментів (contig, scaffold) від 3 до 3,5 тисяч. Дослідженням анотацій та первинної послідовності 21 штаму *S. griseus* з неповністю визначеними послідовностями хромосом (whole genome shotgun sequence) встановлено, що в їх хромосомах здебільш присутні одночасно гени, що детермінують хітинази з доменами зв'язування моделей CDD:213175 та CDD:213178 – 18 штамів (як приклади DSM 40236, NCTC 13033, NRRL WC_3480, 50b). Один штам (S4-7) містить гени, що детермінують хітинази з 3 моделями доменів CDD:213175, CDD:444668 та CDD:213178. У штаму 30 виявлено 2 *chi*-гени, що детермінують хітинази з доменами моделі CDD:213178. У штаму NCTC7807 виявлено 2 хітиназні гени, ензими кодовані якими організовані за різними схемами: один з яких кодує хітиназу з доменом моделі CDD:213178 (схема А), а інший хітиназу без домену зв'язування (схема Б). Однак необхідно зазначити, що в послідовності *S. griseus* NRRL WC_3645 (9,89 М.п.н) не виявлено *chi*-генів

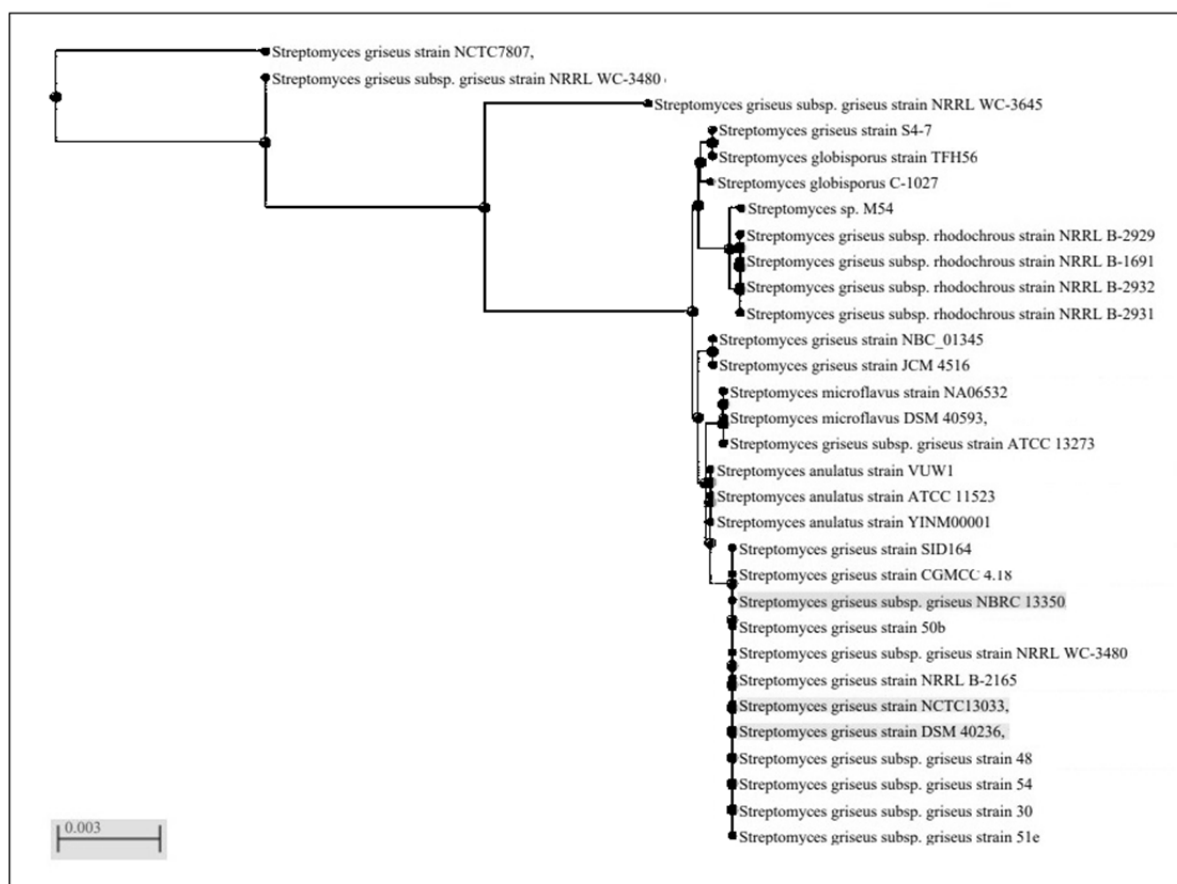


Рис. 2. Дендрограма спорідненості штамів стрептоміцетів, що базується на подібності сіквенсів 16S рРНК генів. Секвенс 16S рРНК *S. griseus* NRRC 12250 – Query Sequence

чи його окремих доменів. Можливо при подальшому секвенуванні генома штаму буде виявлені гени, що детермінують хітинази GH19.

Було побудовано дендрограму спорідненості штамів, що базуються на подібності структур 16S рРНК генів досліджуваних штамів (рис. 2). Як відомо, послідовність цих генів вважається «золотим стандартом спорідненості» стрептоміцетів. Штами стрептоміцетів з однієї класи мають показники ідентичності їх 16S рРНК генів понад 98,7% [12, 13]. В якості референсу використовували послідовність гена (SGR_RS19390) *S. griseus* NRRC 13350.

Показники ідентичності більшості генів штамів стрептоміцетів досліджуваної вибірки були вищими потрібного мінімуму – 98,7%. Однак показники ідентичності нижчі мінімального значення були виявлені у ряду штамів виду *S. griseus* (NCTC7807 (I=96,6), WC 3645 (I=97,4%), NRRL B-2621 (97,6%)). Як повідомлено вище, у цих стрептоміцетів було виявлено певні відмінності в наявності чи будові хітиназ (зокрема доменів зв'язування). Цікаво, що штами *S. griseus* S4-7, *S. globisporus* TFH56 та *S. globisporus* C-1027, в геномах яких виявлено по 3 *chi*-гени утворюють окремий кластер штамів.

Головні висновки. В геномах стрептоміцетів з *S. griseus* групи здебільше присутні по 2 *chi*-гени, що детермінують хітинази з родини GH19. Як правило, хітинази стрептоміцетів з *S. griseus* групи містять домен зв'язування хітину. Показано, що в хітиназах GH19 стрептоміцети з *S. griseus* групи присутні ChtBD3 трьох різних моделей. Встановлено, що у організмів з досліджуваної вибірки стрептоміцетів хітинази з доменами моделей CDD:213175 та CDD:213178 значно поширеніші ніж ферменти з доменами моделей CDD:444668. Встановлено, що будова доменів зв'язування хітиназ може слугувати додатковим показником визначення генетичної спорідненості стрептоміцетів.

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 їх кількості в геномі та змін організації, детермінованих ними хітиназ. Показано, що штами стрептоміцетів *S. griseus* групи є перспективними джерелами хітинолітичних ензимів з різною організацією молекул.

Література

1. 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
2. Kielak A. M., Cretoiu M. S., Semenov A. V., Sorensen S. J., van Elsas 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
3. 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.
4. 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
5. Brzezinska M.S., Jankiewicz U., Walczak M. Biodegradation of chitinous substances and chitinase production by the soil actinomycete *S. rimosus* *International Biodeterioration and Biodegradation*. 2013. № 84. P. 104–110. <http://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.05.038>
6. Gupta R., Saxena R.K., Chaturvedi P., Viridi J.S. Chitinase production by *S. 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
7. Ohno T., Armand S., Hata T., Nikaidou N., Henrissat B., Mitsutomi M., Watanabe T.J. A modular family 19 chitinase found in the prokaryotic organism *Streptomyces griseus* HUT 6037. *Bacteriology*. 1996. Vol. 178. № 17. P. 5065–5070. DOI: 10.1128/jb.178.17.5065-5070.1996
8. 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
9. 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
10. Watanabe T., Kanai R., Kawase T., Tanabe T., Mitsutomi M, Sakuda S., Miyashita K. Family 19 chitinases of *Streptomyces* species: characterization and distribution. *Micobiology*. 1999. Vol. 145, № 12. P. 3353–3363. DOI: 10.1099/00221287-145-12-3353
11. Prakash N.A.U., Jayanthi M., 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
12. Monson A.M., Bradley S.G., Enquist L.W., Cruces G.J. Genetic homologies among *S. violaceoruber* strains. *Bacteriology*. 1969. Vol. 99, № 3. P. 702–706. DOI: 10.1128/jb.99.3.702-706.1969
13. Anderson A.S., Wellington E.W. The taxonomy of *Streptomyces* and related genera. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2001. № 51, № 3. P. 797–814. DOI: 10.1099/00207713-51-3-797