

<https://doi.org/10.15407/frg2023.03.225>

УДК 579.222.2:579.252.2:579.873.71

ПОШИРЕННЯ ХІТИНАЗНИХ ГЕНІВ У ГЕНОМАХ СТРЕПТОМІЦЕТІВ *STREPTOMYCES ALBOVINACEUS* СУБГРУПИ

Л.В. ПОЛІЩУК

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного, Національної академії наук України
03143 Київ, вул. Академіка Заболотного, 154
e-mail: LVPolishchuk@ukr.net

Хітин є однією з найпоширеніших органічних сполук у природі, щороку цього азотовмісного полісахариду синтезується понад 10 гігатонн. Проте значне його накопичення у навколишньому середовищі не спостерігається через деструкцію хітиназами, переважно бактеріями. Крім того, хітинолітичні ферменти вважають можливою заміною синтетичним пестицидам, гербіцидам, інсектицидам і фунгіцидам. Так, хітинази стрептоміцетів родини глікозид-гідролаз GH19 є перспективними фунгіцидами. Штам *Streptomyces griseus* HUT 6037 є першим стрептоміцетом, у якого виявлено хітиназу GH19, він належить до *S. griseus* субклади з *S. griseus* клади. Мета нашої роботи полягала у визначенні поширеності у геномах стрептоміцетів з *S. albovinaceus* субклади (однієї з субклад *S. griseus* клади) генів, що детермінують хітинази родини GH19, та визначити відмінності їх молекулярної організації. Встановлено, що в геномах стрептоміцетів з *S. albovinaceus* субгрупи наявні, як правило, по 3 *chi*-гени, які детермінують хітинази родини GH19. Хітинази стрептоміцетів з *S. albovinaceus* субгрупи містять домени зв'язування хітину (CDD:213175, CDD:213178, CDD:444668). Доведено, що будова доменів зв'язування хітиная може слугувати додатковим показником встановлення генетичної спорідненості стрептоміцетів. Показники ідентичності більшості 16S рРНК генів штамів стрептоміцетів досліджуваної вибірки були вищими від мінімуму (98,7 %), необхідного для визнання генетичної спорідненості штамів. Нижчі за мінімальне значення ($Q_c = 96 \%$, $I = 98,1 \%$) показники ідентичності виявлено для 16S рРНК гена штаму *S. globisporus* NRRL B-2293. Крім того, у цього штаму немає послідовностей, подібних сиквенсам *chi*-генів, що кодують хітинази родини GH19.

Ключові слова: стрептоміцети, *chi*-гени, хітиназа, ідентичність, сиквенс.

Організми, що містять хітин (ракоподібні, павуки, комахи, водорості, гриби та інші), обов'язково продукують хітинази (КФ 3.2.1.14), необхідні їм для морфогенезу клітинної стінки або екзоскелета [1–3]. При цьому організми без хітину (бактерії, віруси, вищі рослини, хребетні) також здатні гідролізувати його. Встановлено, що багато видів бактерій родів *Bacillus*, *Pseudomonas* і *Streptomyces* за рахунок секреції хітиназ використовують хітин як джерело вуглецю [4–6]. Крім того, про-

Цитування: Поліщук Л.В. Поширення хітиназних генів у геномах стрептоміцетів *Streptomyces albovinaceus* субгрупи. *Фізіологія рослин і генетика*. 2023. 55, № 3. С. 225–233. <https://doi.org/10.15407/frg2023.03.225>

дукування хітиназ є важливим захисним чинником протидії різним патогенам [7, 8]. Щороку синтезується понад 10 гігатонн хітину, однак ефективна деструкція хітиназами стримує його катастрофічне накопичення у природі [9].

Останнім часом дослідження хітиназ інтенсифікувалися, оскільки їх застосування є безпечною альтернативою пестицидам у боротьбі зі шкідниками і патогенами, а також підвищує родючість ґрунтів [9–12].

Переважає більшість виявлених хітиназ мікроорганізмів належать до двох родин гідролаз (GH18, GH19) [7, 13, 14]. Ферменти з різних родин відрізняються амінокислотними послідовностями, за рахунок чого мають каталітичні домени, які гідролізують різні глікозидні зв'язки у молекулі хітину та виявляють різну чутливість до інгібітора алозамідину [7, 9–11]. Встановлено, що штами стрептоміцетів одночасно можуть містити ензими з обох родин [7].

Метою нашої роботи було визначити поширеність у геномах стрептоміцетів представників *S. albovinaceus* субклади послідовностей, що кодують хітинази родини GH19 та встановити їх подібність сиквенсам *chi*-генів *S. coelicolor* A3(2) та *S. griseus* HUT 6037.

Методика

Дані щодо ДНК хромосом, контигів, генів і протеїнів використовували із загальнодоступної бази даних GenBank на сервері «The National Center for Biotechnology Information» (NCBI) [www.ncbi.nlm.nih.gov]. Досліджено штами *S. albovinaceus* субклади: *S. globisporus* TFH56 — NZ_CP029361.1, 7488586 пн; *S. globisporus* C-1027 — NZ_CP013738.1 — 7608611 пн; *S. globisporus* 4-3 — САКХУР000000000.1, 7914357 пн; *S. globisporus* M 1 — JAJIRU000000000.1, 7680109 пн; *S. globisporus* 1912-4Crt — NZ_QWFA00000000.1, 7365300 пн; *S. globisporus* QF2 — JACWUS000000000.1, 7339105 пн; *S. globisporus* NRRL B-2293 — NZ_JODW00000000.1, 8632737 пн; *S. albovinaceus* NRRL B-2566 — NZ_MUAX01000000.1, 7234208 пн; *S. globisporus* NRRL B-2709 — NZ_JNZK00000000.1, 7454528 пн; *S. mediolani* NRRL WC-3934 — NZ_JOJK00000000.1, 8120903 пн.

Нуклеотидні амінокислотні послідовності стрептоміцетів аналізували з використанням комп'ютерних програм BLASTN і BLASTP на сервері NCBI.

Результати та обговорення

Вважалось, що хітинази родини GH19 містяться лише у рослинах. Однак у 1996 р. у штаму *S. griseus* HUT6037 виявили хітиназу С (ChiC). Вона була першою гідролазою родини GH19 зі знайдених в організмах, відмінних від вищих рослин [14]. У подальшому збільшилася кількість відкритих в інших організмах хітиназ родини GH19, наприклад, *S. coelicolor* A3(2), *S. lividans* 66, *S. scabies* MAFF 4018, *S. plicatus* ATCC 2548, *Nocardia asteroides*, *Rhodococcus rhodochrous*, *Arthrobacter ramosus*, *Sinorhizobium meliloti*, *Haemophilus influenzae*, *Vibrio*

cholerae, *Salmonella enterica*, *Burkholderia gladioli*, *Deinococcus radiodurans*, бактеріофаг Vxb1, нематода *Caenorhabditis elegans* [1–6]. Вважається, що стрептоміцети отримали гени, що детермінують хітинази, шляхом горизонтального перенесення від рослин.

На сьогодні хітинази стрептоміцетів *S. coelicolor* A3(2) (ChiF, ChiG) і *S. griseus* HUT6037 (ChiC) є найдослідженішими з родини GH19. Крім того, встановлено, що хітинази ChiC і ChiF мають аналогічну організацію [4, 7, 9] (рис. 1).

Необхідно визначити подібність первинних структур не лише *chi*-генів, а й окремих їх доменів (табл. 1).

Встановлено, що показники подібності сиквенсів фрагментів генів, що кодують каталітичні домени всіх досліджених генів, значно вищі від загальних показників послідовностей генів. Разом з тим не виявлено подібності між фрагментами генів *chiC* і *chiF*, які детермінують їх домени зв'язування. Як відомо, домен зв'язування в будові хітиназ не обов'язковий для гідролізу хітину. Однак його наявність поліпшує та оптимізує приєднання субстрату і, таким чином, сприяє його ферментації [10, 11].

Штам *S. griseus* HUT6037 належить до *S. griseus* групи, однієї з найчисельніших і найдослідженіших груп стрептоміцетів. База даних GenBank містить сиквенси понад сотні штамів з *S. griseus* групи, у ній зібрано інформацію про первинну структуру цілих геномів стрептоміцетів цієї класифікації, хромосом, плазмід, контигів, скафолдів, генів та інших фрагментів — загалом понад 30 тис. послідовностей. Довжина представлених у базі даних послідовностей становить від 9,9 Мпн (сиквенс хромосоми штаму *S. griseus* NRRL WC-3645, NZ_JOJE00000000.1) до 14 пн (послідовність біосенсора, LQ431407, WO 2016131665-A1).

Досліджено генетичні карти хромосом кількох сотень стрептоміцетів, послідовності яких просеквеновані найповніше (complete genome, whole genome shotgun sequence). Встановлено, що в них зазвичай міститься більше одного *chi*-гена, що детермінує хітинази родини GH19. Виявлено, що хітинази стрептоміцетів можуть бути організовані як за схемою *a*, так і за схемою *б* (див. рис. 1). З'ясовано, що хітинази стрептоміцетів родини GH19 можуть містити домени

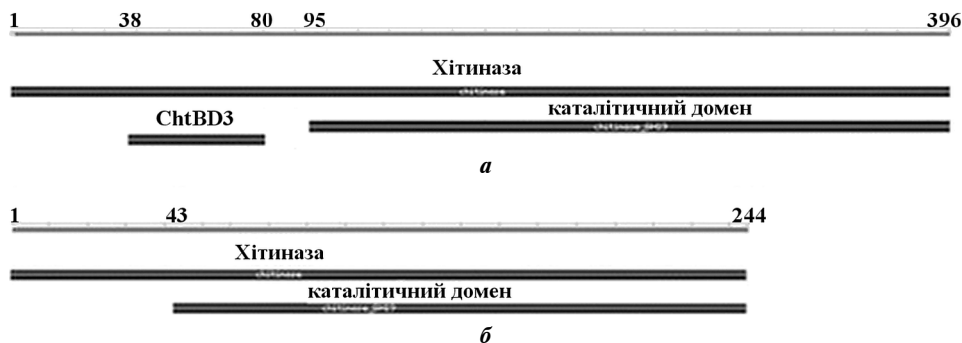


Рис. 1. Організація хітиназ стрептоміцетів родини GH19:

a — хітинази ChiC та ChiF; *б* — хітиназа ChiG; ChtBD3 — N-кінцевий домен зв'язування з хітином; каталітичний домен — C-кінцевий домен, що деградує хітин

ТАБЛИЦЯ 1. Показники подібності сиквенсів хітиназних генів *Streptomyces*

Хітиназні гени стрептоміцетів (Query Sequence)	<i>chi</i> -гени	Домен	
		зв'язування	каталітичний
<i>chiC</i>	<i>chiF</i> (Subject Sequence) Qc = 69 %; I = 85,1 %	BC	Qc = 100 %; I = 85,5 %
	<i>chiG</i> (Subject Sequence) Qc = 65 %; I = 84,0 %	H	Qc = 95 %; I = 84,6 %
<i>chiF</i>	<i>chiC</i> (Subject Sequence) Qc = 70 %; I = 85,1 %	BC	Qc = 95 %; I = 85,4 %
	<i>chiG</i> (Subject Sequence) Qc = 68 %; I = 86,9 %		Qc = 97 %; I = 87,2 %
<i>chiG</i>	<i>chiC</i> (Subject Sequence) Qc = 79 %; I = 84,0 %	BC	Qc = 95 %; I = 84,0 %
	<i>chiF</i> (Subject Sequence) Qc = 82 %; I = 87,0 %		Qc = 99 %; I = 86,9 %

Примітка. BC — відсутня схожість; Qc — покриття (Query coverage); I — ідентичність (Identity).

ТАБЛИЦЯ 2. Комплекси хітиназ родини GH19 стрептоміцетів та індексифікатори доменів зв'язування

Штам стрептоміцета <i>S. albobinaceus</i> субгрупи	Хітиназа родини GH19	Індексифікатори доменів зв'язування хітиназ
<i>S. anulatus</i> YINM00001 (NZ_CP086102.1)	WP_015609542.1	CDD:213175
	WP_015606590.1	CDD:213178
<i>S. microflavus</i> DSM40593 (NC_021177.1)	WP_015609542.1	CDD:213178
	WP_015606590.1	CDD:213178
<i>S. koyangensis</i> SCS105802 (NZ_CP049945.1)	WP_203216390.1	CDD:213178
	WP_203216409.1	*
	WP_129847634.1	*
<i>S. globisporus</i> C-1027 (NZ_CP013738.1)	WP_010063227.1	CDD:213175
	WP_010064642.1	CDD:444668
	WP_010063226.1	CDD:213178
<i>S. globisporus</i> TFH56 (NZ_CP029361.1)	WP_030812869.1	CDD:213175
	WP_044369170.1	CDD:444668
	WP_044374610.1	CDD:213175
<i>S. bacillaris</i> ATCC15855 (NZ_CP029378.1)	WP_112491090.1	CDD:213175
	WP_103420217.1	*
<i>S. coelicolor</i> A3(2) (AL645882.2)	WP_011031550.1	CDD:444668
	WP_011027151.1	*
<i>S. albidoflavus</i> J1074 (NZ_DS999645.1)	WP_003951165.1	*

* Домен зв'язування відсутній.

ПОШИРЕННЯ ХІТИНАЗНИХ ГЕНІВ В ГЕНОМАХ СТРЕПТОМІЦЕТІВ

зв'язування з індексифікаторами (моделями) CDD:213178, CDD:213175, CDD:444668. Показано, що комплекси хітиназ стрептоміцетів родини GH19 складаються з різної кількості хітиназ різної організації (табл. 2).

Амінокислотна структура каталітичних доменів усіх хітиназ має високу подібність, на відміну від сиквенсів доменів зв'язування (див. табл. 1).

Дослідження хітиназ родини GH19 штамів з *S. albovinaceus* субгрупи *S. griseus* клади становить значний інтерес, оскільки у штамів представників цієї субгрупи в геномах виявлено одночасно по 3 гени, що детермінують хітинази GH19.

ТАБЛИЦЯ 3. *chi*-Гени в геномах стрептоміцетів *Streptomyces albovinaceus* субгрупи та детерміновані ними хітинази

Штам стрептоміцета (Subject Sequence)	Номер посилання у базі даних NCBI протеїнів та генів, що їх кодують		Моделі доменів зв'язування хітиназ
	<i>chiC</i> гени штаму	Хітинази GH19	
<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	AWL87118 WP_044369170.1 WP_044374610.1	CDD:213175 CDD:444668 CDD:213178
<i>S. globisporus</i> 1912-4Crt	D3105_28195 D3105_00035	ROV65282 ROV70471	CDD:213175 CDD:444668
<i>S. globisporus</i> QF2	ID875_07560 ID875_07565	MBD282835 MBD282836	CDD:213175 CDD:213178
<i>S. globisporus</i> JCM 4378	GCM10010264_60930 GCM10010264_60940 GCM10010264_14490	GGW14904 GGW14906 GGW02455	CDD:213175 CDD:213178 CDD:444668 *
<i>S. globisporus</i> 4-3	SGL43_03173 SGL43_03170 SGL43_04079	CAH9416149 CAH9416147 CAH9417039	CDD:213175 CDD:213178 CDD:444668
<i>S. globisporus</i> M1	LMJ41_19010 LMJ41_19005 LMJ41_22245	MCC8479961 MCC8479960 MCC8480598	CDD:213175 CDD:213178 CDD:444668 *
<i>S. globisporus</i> NRRL B-2709	IF53_RS0105230 IF53_RS0235525 IF53_RS0116580	WP_030578644 WP_199814165 WP_030584826	CDD:213175 CDD:213178 CDD:444668
<i>S. globisporus</i> NRRL B-2293	H	H	
<i>S. albovinaceus</i> NRRL B-2566	BZL61-RS21865 BZL61-RS21860 BZL61-RS01875	WP_086672377 WP_086672375 WP_088573627	CDD:213175 CDD:213178 CDD:444668
<i>S. medilorani</i> NRRLWC-3934	IH16_RS0130750 IH16_RS0130745 IH16_RS0105375	WP_030812869 WP_030812866 WP_030800552	CDD:213175 CDD:213178 CDD:444668
<i>S. griseus</i> HUT 6037	<i>chiC</i>	BAA23739.1	CDD:213175
<i>S. coelicolor</i> A3(2)	<i>chiF</i> (SCO7263) <i>chiG</i> (SCO0482)	WP_011031550.1 WP_011027151.1	CDD:444668

Проаналізовано генетичні карти хромосом 11 штамів стрептоміцетів з *S. albovinaceus* субгрупи, послідовності яких просеквеновані найбільш повно (complete genome, whole genome shotgun sequence) та визначено наявність генів, які детермінують хітинази родини GH19 (табл. 3).

Визначено також індексифікатори (моделі) доменів зв'язування детермінованих ферментів (див. табл. 3). Хітинази GH19 стрептоміцетів з *S. albovinaceus* субгрупи містять домени зв'язування хітину (CDD:213175, CDD:213178, CDD:444668).

Встановлено, що в геномах стрептоміцетів сукупності штамів, як правило, наявні по 3 *chi*-гени, що детермінують хітинази родини GH19 (див. рис. 1, а). Винятком є штами *S. globisporus* NRRL B-2293, 1912-4Crt та QF2. У штаму NRRL B-2293 взагалі немає генів, що детермінують хітинази родини GH19, у штамів 1912-4Crt та QF2 знайдено по 2 *chi*-гени. Однак, імовірно, в геномах цих штамів за отримання повних сиквенсів ДНК будуть виявлені ще гени, які детермінують хітинази родини GH19. Загальний молекулярний розмір визначеної послідовності *S. globisporus* NRRL B-2293 становить 8,6 Мпн, що є середнім значенням для розміру хромосом стрептоміцетів. Крім того, повідомляється, що мікроорганізми можуть продукувати хітинази з обох родин одночасно, але їх одночасна наявність не є обов'язковою [7].

Проведено BLASTP-аналіз послідовностей хітиназ родини GH19 з доменом зв'язування моделі CDD:213175 досліджуваної сукупності штамів (табл. 4). Послідовність хітинази (WP_010063227.1) штаму *S. globisporus* C-1027 використовували як референсну.

Проведені дослідження засвідчили істотну подібність сиквенсів хітиназ більшості штамів з вибірки. Показники ідентичності нуклеотидних послідовностей тотожні на понад 98 %. Показник штаму

ТАБЛИЦЯ 4. Показники подібності послідовностей хітиназ родини GH19 зі штамів стрептоміцетів *Streptomyces albovinaceus* субгрупи (Subject Sequence)

Штам стрептоміцета — джерела хітинази	Номер хітинази у GenBank	Показники подібності сиквенсів хітиназ
<i>S. globisporus</i> TFH56	AWL87118	Qc = 100 %; I = 99,3 %
<i>S. globisporus</i> 1912-4Crt	ROV65282	Qc = 100 %; I = 98,3 %
<i>S. globisporus</i> QF2	MBD282835	Qc = 100 %; I = 89,8 %
<i>S. globisporus</i> JCM 4378	GGW14904	Qc = 100 %; I = 99,3 %
<i>S. globisporus</i> 4-3	САН9416149	Qc = 100 %; I = 98,9 %
<i>S. globisporus</i> M1	MCC8479961	Qc = 100 %; I = 98,6 %
<i>S. globisporus</i> NRRL B-2709	WP_030578644	Qc = 100 %; I = 97,9 %
<i>S. albovinaceus</i> NRRL B-2566	WP_030812869	Qc = 95 %; I = 99,3 %
<i>S. medilorani</i> NRRLWC-3934	WP_030812869	Qc = 100 %; I = 99,3 %
<i>S. griseus</i> HUT 6037	BAA23739.1	Qc = 100 %; I = 87,8 %

Примітка. Qc (Query coverage) — послідовність хітинази WP_010063227.1 штаму *S. globisporus* C-1027; I (Identity) — ідентичність.

S. globisporus QF2 становить $I = 89,8 \%$, відрізняється від показника ідентичності хітинази *chiC* *S. griseus* HUT 6037 (див. табл. 4).

На основі отриманих результатів побудовано дендрограму спорідненості досліджуваних штамів, що ґрунтується на подібності структур 16S рРНК генів (рис. 2). Послідовність цих генів вважають «золотим стандартом спорідненості», необхідним для визнання генетичної спорідненості штамів. Штами стрептоміцетів з однієї клади мають показники ідентичності їх 16S рРНК генів понад $98,7 \%$ [15, 16]. Послідовність гена WQO_RS26640 штаму *S. globisporus* C-1027 використовували як референс.

Показники ідентичності більшості 16S рРНК генів штамів стрептоміцетів досліджуваної вибірки були вищими від необхідного мінімального показника подібності. Однак показники ідентичності штаму *S. globisporus* NRRL B-2293 були нижчими від мінімального значення ($Q_c = 96 \%$; $I = 98,1 \%$). Як зазначено вище, у цього штаму не виявлено послідовностей, подібних сиквенсам *chi*-генів, що кодують хітинази родини GH19.

Крім того, у штамів *S. globisporus* 1912-4Crt та QF2 знайдено по 2 *chi*-гени. Імовірно, у штамів, при отриманні повних сиквенсів ДНК, будуть виявлені ще гени, які детермінують хітинази родини GH19. Проте побудова дендрограми показала, що штам *S. globisporus* QF2 є найменш спорідненим з іншими штамми *S. albovinaceus* субгрупи.

Отже, встановлено, що в геномах стрептоміцетів, як правило, міститься один чи більше генів, що детермінують хітинази родини GH19. Ферменти мають доменну структуру, можуть містити два домени — зв'язування і каталітичний, або лише каталітичний. Хітинази стрептоміцетів можуть мати домени зв'язування з трьома індексифікаторами (CDD:213175, CDD:213178, CDD:444668). Можливі варіанти, з чого складаються комплекси хітиназ родини GH19 одного штаму стрептоміцетів. Поглиблено розглянуто хітинази GH19 11 стрептоміцетів з *S. albovinaceus* субгрупи. За результатами проведеного дослідження встановлено, що в геномах стрептоміцетів зазвичай наявні по 3 *chi*-гени, що детермінують хітинази родини GH19. Хітинази стрептоміцетів з *S. albovinaceus* субгрупи містять домени зв'язу-

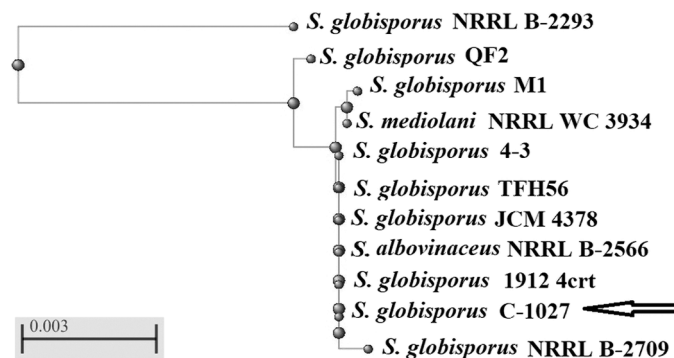


Рис. 2. Дендрограма спорідненості штамів стрептоміцетів *S. albovinaceus* субгрупи, що ґрунтується на подібності сиквенсів 16S рРНК генів. Позицію референсного 16S рРНК гена *S. globisporus* C-1027 позначено стрілкою

вання хітину всіх трьох моделей. Показники ідентичності більшості 16S рРНК генів штамів стрептоміцетів досліджуваної вибірки вищі від мінімуму (98,7 %), необхідного для визнання генетичної спорідненості штамів. Нижчі за мінімальне значення ($Q_c = 96\%$; $I = 98,1\%$) показники ідентичності має 16S рРНК ген штаму *S. globisporus* NRRL B-2293. Крім того, у цього штаму не виявлено послідовностей, подібних сиквенсам *chi*-генів, що кодують хітинази родини GH19. На основі отриманих результатів з дослідження хітиназ родини GH19 мікроорганізмів *S. albobinaceus* субгрупи показано, що будова доменів зв'язування хітиназ може слугувати додатковим показником визначення генетичної спорідненості стрептоміцетів.

REFERENCES

1. Edreva, A. (2005). Pathogenesis related proteins: research progress in the last 15 years. *General and Applied Plant Physiology*, 31, No. 1-2, pp. 105-124.
2. Esteban, A. Veliz, E.V., Martinez-Hidalgo, P. & Hirsch, A.M. (2017). Chitinase-producing bacteria and their role in biocontrol. *AIMS Microbiology*, 3, No. 3, pp. 689-705. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2017.3.689>
3. Bao, L. & Yang, S-H. (2019). Microbial chitinases: properties, current state and biotechnological applications. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 35, No. 9, pp. 130-144. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2721-y>
4. Wang, S.L. & Chang, W.T. (1997). Purification and characterization of two bifunctional chitinase/lysozymes extracellularly produced by *Pseudomonas aeruginosa* K-187 in a shrimp and crab shell powder medium. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63, No. 2, pp. 380-386. <https://doi.org/10.1128/aem.63.2.380-386.1997>
5. Wang, S.L., Shih, I.L., Liang, T.W. & Wang, C.H. (2002). Purification and characterization of two antifungal chitinases produced by the *Bacillus amyloliquefaciens* V656 in a shrimp and crab shell powder medium. *J. Agric. Food Chem.*, 50, No. 8, pp. 2241-2248.
6. Kawase, T., Saito, A., Sato, T., Kanai, R., Fujii, T., Nikaidou, N., Miyashita, K. & Watanabe, T. (2004). Distribution and phylogenetic analysis of family 19 chitinases in Actinobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70, No. 2, pp. 1135-1144. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.2.1135-1144.2004>
7. Kawase, T., Yokokawa, S., Saito, A., Fujii, T., Nikaidou, N., Miyashita, K. & Watanabe, T. (2006). Comparison of enzymatic and antifungal properties between family 18 and 19 chitinases from *S. coelicolor* A3(2). *Bioscience, Biotechnology, and Biochem.*, 70, No. 4, pp. 988-998. <https://doi.org/10.1271/bbb.70.988>
8. Gupta, R., Saxena, R.K., Chaturvedi, P. & Viridi, J.S. (1995). Chitinase production by *S. viridificans*: its potential in fungal cell wall lysis. *J. Applied Bacteriol.*, 78, No. 4, pp. 378-383. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1995.tb03421.x>
9. Kielak, A.M., Cretoiu, M.S., Semenov, A.V., Sorensen, S.J. & van Elsas, J.D. (2013). Bacterial chitinolytic communities respond to chitin and pH alteration in soil. *Applied and Envir. Microbiol.*, 79, No. 1, pp. 263-272. https://doi.org/10.1128/AEM.02546_12
10. Patel, S. & Goyal, A. (2017). Chitin and chitinase: Role in pathogenicity, allergenicity and health. *Int J. Biol. Macromol.*, 97, pp. 331-338. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.042>
11. Prakash, N.A.U., Jayanthi, M., Sabarinathan, R., Kanguane, P., Mathew, L. & Sekar, K. (2010). Evolution, homology conservation, and identification of unique sequence signatures in GH19 family chitinases. *J. Molecul. Evolution*. 70, No. 5, pp. 466-478 https://doi.org/10.1007/s00239_010_9345_z
12. Dahiya, N., Tewari, R. & Hoondal, G.S. (2006). Biotechnological aspects of chitinolytic enzymes: a review. *Applied Microbiol. Biotechnol.*, 71, No. 6, pp. 773-782. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0183-7>
13. Watanabe, T., Kanai, R., Kawase, T., Tanabe, T., Mitsutomi, M., Sakuda, S. & Miyashita, K. (1999). Family 19 chitinases of *Streptomyces* species: characterization and

- distribution. *Microbiology*, 145, No. 12, pp. 3353-3363. <https://doi.org/10.1099/00221287-145-12-3353>
14. Ohno, T., Armand, S., Hata, T., Nikaidou, N., Henrissat, B., Mitsutomi, M. & Watanabe, T.J. (1996). A modular family 19 chitinase found in the prokaryotic organism *Streptomyces griseus* HUT 6037. *J. Bacteriol.*, 178, No. 17, pp. 5065-5070. <https://doi.org/10.1128/jb.178.17.5065-5070.1996>.
 15. Monson, A.M., Bradley, S.G., Enquist, L.W. & Cruces, G.J. (1996). Genetic homologies among *S. violaceoruber* strains. *J. Bacteriol.*, 99, No. 3, pp. 702-706. <https://doi.org/10.1128/jb.99.3.702-706.1969>
 16. Anderson, A.S. & Wellington, E.W. (2001). The taxonomy of *Streptomyces* and related genera. *Int. J. System. Evol. Microbiol.*, 51, No. 3, pp. 797-814. <https://doi.org/10.1099/00207713-51-3-797>

Received 28.06.2023

DISTRIBUTION OF GENES ENCODING CHITINASES GH19 IN GENOMES OF THE *STREPTOMYCES ALBOVINACEUS* SUBGROUP

L.V. Polishchuk

D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine
154 Academica Zabolotnogo St., Kyiv, 03143, Ukraine
e-mail: LVPolishchuk@ukr.net

Although chitin is one of the most common organic compounds in nature, more than 10 gigatons of this nitrogen-containing polysaccharide are synthesized per year. However, significant accumulation of it in the environment is not observed, due to the destruction of this polymer by chitinases mainly of bacteria. In addition, chitinolytic enzymes are considered a possible replacement for synthetic pesticides, herbicides, insecticides and fungicides. For example, streptomycete chitinases from the family of glycoside-hydrolases GH19 are promising fungicides. The strain *Streptomyces griseus* HUT 6037 is the first streptomycete in which GH19 chitinase was identified. The strain *S. griseus* HUT 6037 belongs to the *S. griseus* subclade of the *S. griseus* clade. The aim of our work was to determine the prevalence in the genomes of streptomycetes from the *S. albovinaceus* subclade (one of the subclades of the *S. griseus* 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 *S. albovinaceus* subgroup, as a rule, there are 3 *chi*-genes that determine chitinases from the GH19 family. Streptomycete chitinases from the *S. albovinaceus* subgroup contain chitin-binding domains (CDD:213175, CDD:213178, CDD:444668). It is shown that the structure of chitinases binding domains can serve as an additional indicator for determining the genetic kinship of streptomycetes. The indices of identity of the majority of 16S rRNA genes of the streptomycete strains of the studied sample were higher than the required minimum (98.7 %), necessary to recognize the genetic kinship of the strains. However, identity values lower than the minimum value ($Q_c = 96\%$; $I = 98.1\%$) were found for the 16S rRNA gene of the strain *S. globisporus* NRRL B-2293. In addition, no sequences similar to the sequences of *chi*-genes encoding chitinases of the GH19 family were found in this strain.

Key words: streptomycete, *chi*-gene, chitinase, identity, sequence.

ORCID

Л.В. ПОЛІЩУК — [L.V. Polishchuk https://orcid.org/0000-0002-3159-5022](https://orcid.org/0000-0002-3159-5022)