

ПОЛИЩУК Л. В.

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАНУ,
Украина, 03680, г. Киев, ул. Акад. Заболотного, 154, e-mail: LVPolishchuk@ukr.net

ЗАКОНОМЕРНОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ БЕТА-ГАЛАКТОЗИДАЗНЫХ ГЕНОВ В ХРОСОМОХ СТРЕПТОМИЦЕТОВ

Цель. Выявить закономерности локализации генов, кодирующих бета-галактозидазы (β -gal гени) в геномах стрептомицетов. **Методы.** Анализировали генетические карты 94 штаммов стрептомицетов, представленные в Интернет-базах данных сервера NCBI. **Результаты.** Молекулярные размеры геномов штаммов в выборке составляли от 6,84 М. п. н. до 12,7 М. п. н. Наибольшее количество геномов (43,7 %) в выборке имеют молекулярные размеры от 7,0 М. п. н. до 8,5 М. п. н., Как определено, количество β -gal генов на генетических картах варьировало от 0 до 13. 61,3 % штаммов содержали в своих геномах по 1 – 3 β -gal гена. Установлено, что указанные гены расположены в геномах стрептомицетов, как правило, в терминальных областях. 79 % изученных β -gal генов имели молекулярные размеры 1,5 т. п. н. до 2,1 т. п. н. **Выводы.** Установлены следующие закономерности локализации β -gal генов в геномах стрептомицетов: 1) выявлена тенденция локализации подавляющего большинства β -gal генов в терминальных областях геномов стрептомицетов; 2) установлена закономерность локализации в коровой области отдельных β -gal генов как в геномах больших молекулярных размеров, так и содержащих более 8 генов; 3) в геномах стрептомицетов содержатся β -gal гены преимущественно размером от 1,5 т. п. н. до 2,1 т. п. н. (не зависимо от молекулярных размеров геномов и количества β -gal генов в них).

Ключевые слова: β -gal ген, геном, стрептомицет, молекулярный размер.

β -галактозидазы относятся к классу гидролаз (КФ 3.2.1.23). Энзимы осуществляют гидролиз b-связей в молекулах различных углеводных субстратов: как в простых (например, лактаза), так и в сложных (гликопротеинах, гликолипидах, гликозилированных флавоноидах) [1, 2].

β -галактозидазы выявлены у микроорганизмов, в частности таких, как грибы, бак-

терии и дрожжи; в клетках растений и животных [1–3].

Однако β -галактозидазы не являются ферментами, необходимыми для поддержания важнейших жизненных функций организма. Установлено, что экспрессия многих генов, кодирующих β -галактозидазы микроорганизмов, индуцируется факторами внешней среды (как пример, лактозный оперон *Escherichia coli* [4].

Кроме того, выявлено существование множества микроорганизмов, не ферментирующих лактозу. Среди лактозонегативных есть и представители условно-патогенной флоры – это лактозонегативные энтеробактерии (эшерихии, клебсиеллы, протеи, цитробактеры, энтеробактеры, гафнии, серрации) [5].

Целью данного исследования было изучение тенденций локализации генов, кодирующих бета-галактозидазы в геномах 94 штаммов из рода *Streptomyces*.

Материалы и методы

При выполнении работы анализировались генетические карты 94 штаммов стрептомицетов, представленных в Интернет-базах данных сервера NCBI (National Center of Biotechnological Information, Bethesda, MD, USA).

Результаты и обсуждение

Интернет-базы данных сервера NCBI содержат информацию о первичной структуре хромосомных ДНК множества организмов (в том числе и тысяч штаммов стрептомицетов) разной степени сборки, включая последовательности, как отдельных генов, так и целых геномов.

При выполнении работы, результаты которой представлены в статье, анализировались генетические карты более чем 90 штаммов стрептомицетов. Критерием отбора штаммов для исследований служила степень завершенности построения генетических карт. Выборка объединяет 94 штамма с максимальной степе-

нию сборки геномов (complete genome, chromosome).

Молекулярные размеры геномных ДНК штаммов в выборке составляли от 6841649 п. н. (*S. albidoflavus* J1027: NC_020990.1) до 12700734 п. н. (*S. rapamycinicus* NRRL 5491: CP006567) (рис. 1). Наибольшее количество штаммов стрептомицетов в выборке имеют молекулярные размеры от 7,0 М. п. н. до 8,5 М. п. н, что соответствует данным научной литературы (А. А. Prozorov). Суммарное количество штаммов в 3 группах (с размерами геномов от 7,0 М. п. н. до 8,5 М. п. н) составляло 49,8 %. Количество штаммов в 4 группах с размерами геномов от 11,0 М. п. н. до 13,0 М. п. н составляло в сумме 6,1 %.

Количество β -gal генов на генетических картах штаммов стрептомицетов в выборке варьировало от 0 (как пример, *Streptomyces sp.* ICC4: NZ_CP030286.1 – 9010404 п. н.) до 13 (*S. bingchenggensis* BCW-1: NC_016582.1 – 11936683 п. н.) (рис. 2).

Наибольшее количество штаммов (61,3 %) стрептомицетов содержали в геномах по 1–3 β -gal гена. Необходимо отметить, что на генетических картах 10 штаммов стрептомицетов не указаны β -gal гены: *Streptomyces sp.* ICC4, *S. albidoflavus* J1027, *S. sampsonii* KJ40: NZ_CP016824.1, 7070328 п. н., *Streptomyces sp.* FR-008: NZ_CP009802.1, 7090955 п. н., *Streptomyces sp.* TN58: NZ_CP018870.1, 7585034 п. н., *Streptomyces sp.* fd1-xmd: NZ_CP019798.1, 7929999 п. н., *Streptomyces sp.* ICC4: NZ_CP030286.1, 9010404 п. н.; *Streptomyces sp.* SM17: NZ_CP029338.1, 6975788 п. н., *Streptomyces sp.* GBA 94-10: NZ_CM002271.1 7221786

п. н., *Streptomyces sp.* PVA 94-07: NZ_CM002273.1, 7104210 п. н., *S. globosus* LZH-48: NZ_CP030862, 6863360 п. н. Молекулярные размеры геномов данных штаммов были от 6841649 п. н. (*S. albidoflavus* J1027) до 9010404 п. н. (*Streptomyces sp.* ICC4).

Как известно, β -gal гены не принадлежат к группе так называемых «housekeeping genes» [6]. Факультативные гены, гены вторичного метаболизма, как правило, располагаются в терминальных областях хромосом микроорганизмов [7]. Такая локализация генов приводит к их значительной изменчивости [8].

Представляет интерес изучить локализацию β -gal генов в хромосомах стрептомицетов на примере штаммов из выборки. Рассмотрена локализация β -gal генов 2 групп штаммов: 1) группа штаммов (22 штамма), геномы которых имеют молекулярные размеры от 7,0 М. п. н. до 8,0 М. п. н.; 2) группа штаммов, молекулярный размер геномов которых от 9,5 М. п. н. до 10,5 М. п. н. (22 штамма) (рис. 3).

Штаммы 1 группы содержат в геномах от 1 до 8 β -gal генов. Суммарно в геномах штаммов группы содержалось 51 ген. В геномах большинства штаммов (18 штаммов) содержится по 1 гену. Штамм *Streptomyces sp.* РАМС26508 содержит в геноме 8 β -gal генов. Проявляется видимая тенденция локализации генов в геномах таких штаммов вне коровой области хромосомы. Это соответствует данным научной литературы о закономерности локализации факультативных генов в хромосомах микроорганизмов – они, как правило, локализованы в терминальных областях геномов [7, 8].

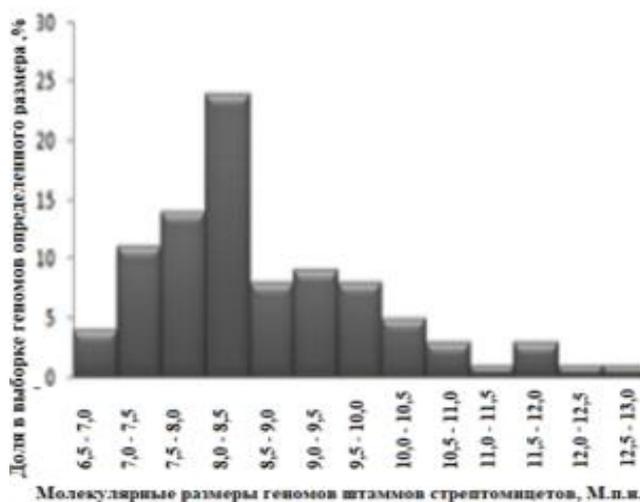
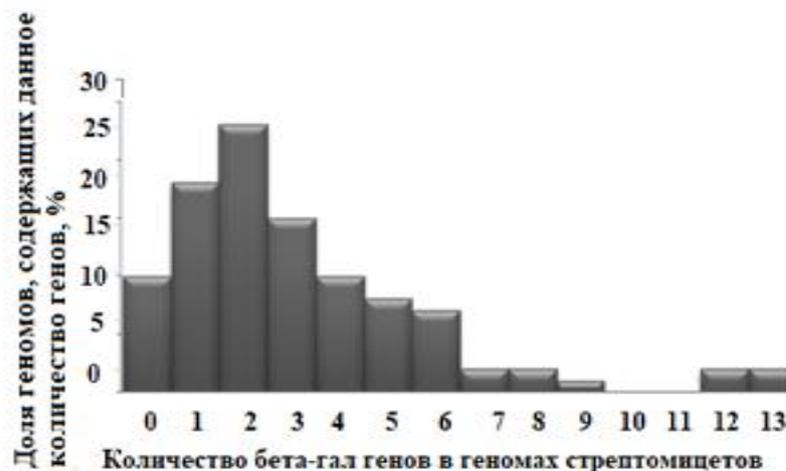
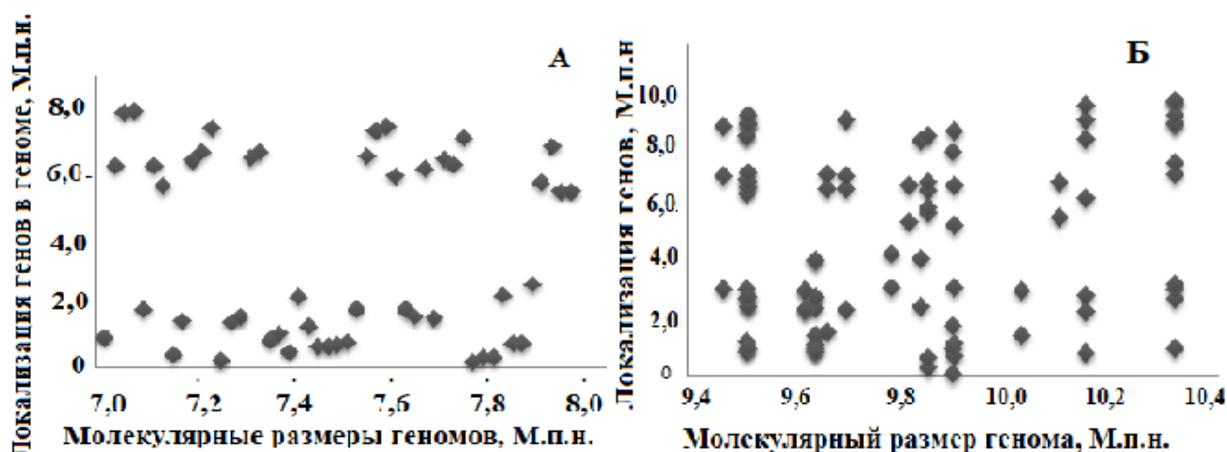


Рис. 1. Состав выборки штаммов стрептомицетов (%) в зависимости от молекулярного размера их геномов.

Рис. 2. Распространенность β -gal генов в геномах штаммов стрептомицетов из выборки.Рис. 3. Локализация β -gal генов на chromosome стрептомицетов. А – группа штаммов, молекулярный размер геномов которых от 7,0 М. п. н. до 8,0 М. п. н.; Б – группа штаммов, молекулярный размер геномов которых от 9,8 М. п. н. до 10,8 М. п. н.

У штаммов 2 группы в геномах содержится от 2 до 12 генов. Суммарно в геномах штаммов группы содержалось 98 генов. В геноме штамма *S. lincolnensis* NRRL 2936 присутствуют 12 β -gal генов. По 2 β -gal гена содержатся в геномах большинства штаммов (8 штаммов). В геномах штаммов данной группы β -gal гены могут быть локализованы не только в терминальных областях chromosome, но и в коровой области.

На рис. 3 Б можно увидеть, что β -gal гены могут быть локализованы в коровой области геномов штаммов. Как пример, отдельные β -gal гены штаммов *Streptomyces sp.* 769 (NZ_CP028369.1), *Streptomyces sp.* CdTB01 (NZ_CP013743.1), *S. hygrosopicus subsp. jinggangensis* TL01 (NC_020895) и ряда других штаммов локализованы в области обязательных генов.

В соответствии с данными генетических карт, представленных в базах данных сервера NCBI, геномы ряда штаммов стрептомицетов из выборки содержали большее количество β -gal генов, чем другие: по 8 генов указано на картах геномов *Streptomyces sp.* PAMC26508 (NC_021055, 7526197 п. н.) и *Streptomyces sp.* Go-475 (NZ_CP026121, 8570609 п. н.); 9 генов есть в геноме *S. lincolnensis* LC-G (NZ_CP022744, 9513637 п. н.), по 12 штаммов присутствуют в геномах 3 штаммов: *Streptomyces sp.* CC0208 (NZ_CP031969, 9320089 п. н.), *S. lincolnensis* NRRL 2936 (NZ_CP016438, 10319054 п. н.) и *S. bingchengensis* BCW-1 (NC_016582, 11936683 п. н.); 13 генов указаны в геноме штамма *S. svicensis* ATCC 29083 (NZ_CM000951, 9313494 п. н.).

Установлена ярко выраженная тенденция к локализации β -gal генов у штаммов с макси-

мальным количеством генов в коровой области (рис. 4). Однако, возможно, в коровой области локализуются гены не у всех штаммов, имеющих большие молекулярные размеры. Так, все β -gal гены штамма *Streptomyces sp.* PAMC26508 могут быть локализованы вне коровой области.

Молекулярные размеры геномов этих штаммов были от 7,5 М. п. н. до 11,9 М. п.н.

В то же время молекулярный размер генома штамма *Streptomyces sp.* M56 (NZ_CP025018), который содержит 2 β -gal гена, составляет 11,7 М. п. н., молекулярный размер генома штамма *S. raramycinicus* NRRL 5491 (CP006567), содержащего 3 гена, – 12,7 М. п. н.

Одной из важных характеристик генов является их молекулярный размер. В соответствии с информацией Интернет-баз данных сервера NCBI, молекулярные размеры бета-галактозидаз варьируют от 1239 п. н. (как пример, ген SCNRRL3882_RS09480 – *S. chartreusis* NRRL 3882: NZ_LT963352, 8983317 п. н.) до 4176 п. н. (ген SSEG_RS39285 – *S. sviveus* ATCC 29083: NZ_CM000951, 9313494 п. н.).

94 штамма стрептомицетов суммарно содержали в своих геномах 293 гена, кодирующих бета-галактозидазы. Распределение подборки ферментов в зависимости от их молекулярного размера представлено на рис. 5.

Таким образом, наблюдается тенденция к преимущественному содержанию в геномах рассматриваемых стрептомицетов генов, кодирующих бета-галактозидазы с молекулярным размером от 1500 п. н. до 2100 п. н. Интересным представлялось определить существование взаимосвязи размеров молекул бета-галактозидаз от количества генов, их кодирующих, в геномах штаммов стрептомицетов (рис. 6).

На основании полученных данных можно сделать предположение о наличии взаимосвязи количества β -gal генов в геномах штаммов и молекулярных размеров ферментов: увеличение количества копий в геноме коррелирует с увеличением молекулярного размера гена, кодирующего фермент.

Интересно, что наблюдается тенденция к преимущественному содержанию β -gal генов размером от 1500 п. н. до 2100 п. н в геномах штаммов, имеющих значительно отличающиеся молекулярные размеры: как 8,0 М. п. н., так и 12,0 М. п. н. (рис. 7).

Таким образом, выявлено существование определенных закономерностей в распространении β -gal генов в геномах 94 штаммов стрептомицетов.

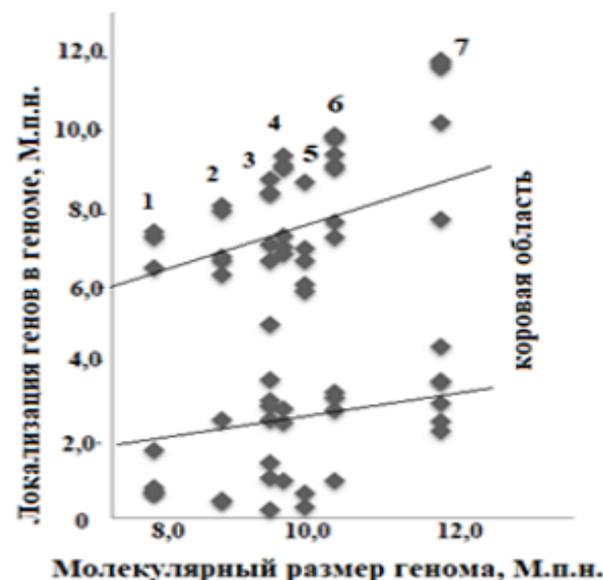


Рис. 4. Локализация β -gal генов в геномах ряда стрептомицетов: 1 – *Streptomyces sp.* PAMC26508; 2 – *Streptomyces sp.* Go-475; 3 – *S. sviveus* ATCC 29083; 4 – *Streptomyces sp.* CC0208; 5 – *S. lincolnensis* LC-G; 6 – *S. lincolnensis* NRRL 2936; 7 – *S. bingchengensis* BCW-1.

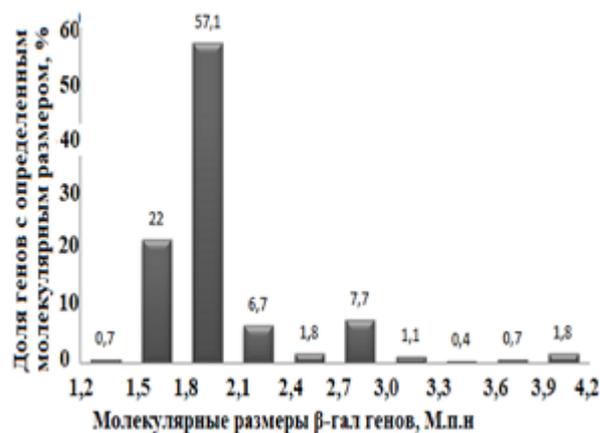


Рис. 5. Распределение бета-галактозидазных генов выборки в зависимости от их молекулярного размера.

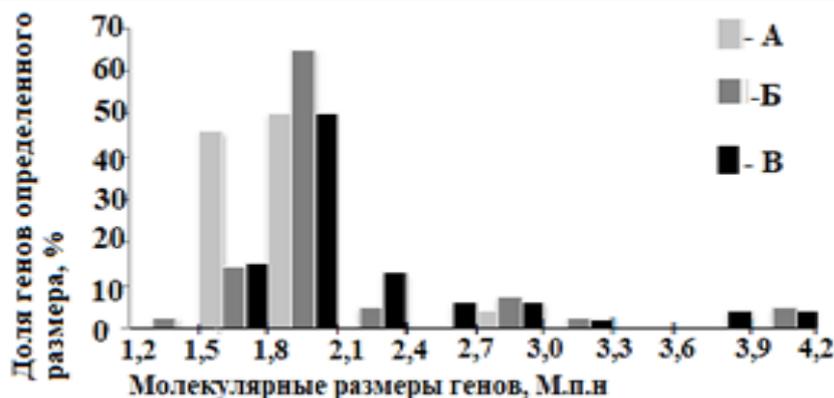


Рис. 6. Распределение в зависимости от размеров молекул наборов β -gal генов штаммов, содержащих в геномах 1 ген (А), 6 генов (Б) и 12–13 генов (В).

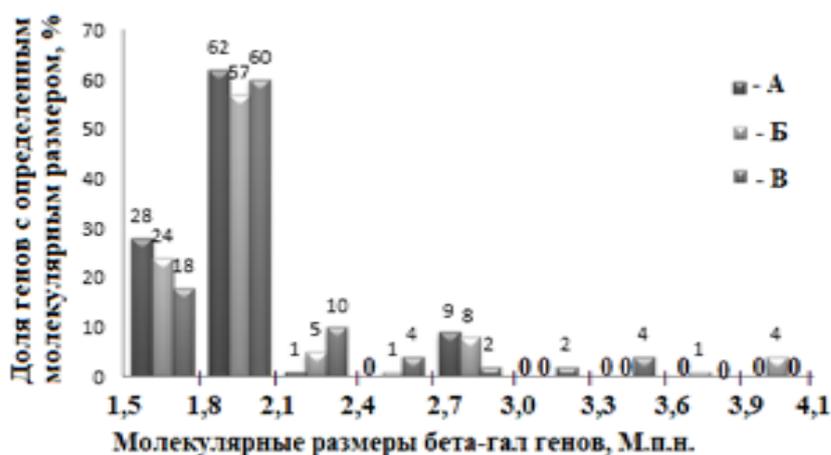


Рис. 7. Распределение наборов β -gal генов в зависимости от размеров молекул. Молекулярные размеры геномов: 8,0–8,5 М. п. н. (А), 9,5–10,0 М. п. н. (Б) и 10,0–12,0 М. п. н. (В).

Выводы

1) В геномах стрептомицетов преимущественно содержится от 1 до 4 β -gal генов, независимо от молекулярных размеров геномов. 2) Подавляющее большинство β -gal генов в геномах стрептомицетов локализованы в их терминальных областях. 3) Отдельные β -gal гены могут быть локализованы в коровой области (как в геномах больших молекулярных разме-

ров, так и в геномах, содержащих большее количество β -gal генов). 4) В геномах стрептомицетов подавляющее большинство β -gal генов имеют молекулярный размер от 1,5 т. п. н. до 2,1 т. п. н., независимо от молекулярных размеров самих геномов и/или количества β -gal генов в них.

References

- Husain Q. Beta galactosidases and their potential applications: a review. *Crit Rev Biotechnol.* 2010. Vol. 30 (1). P. 41–62. doi: 10.3109/07388550903330497.
- Feniksova R.V., Tikhomirova A.S., Kulikova A.N., Kuznetsov V.D. Production of beta-galactosidase by various microorganisms. *Mikrobiologiya.* 1968. Vol. 37, № 6. P. 988–992. [in Russian] / Фениксова Р.В., Тихомирова А.С., Куликова А.К., Кузнецов В.Д. Синтез бета-галактозидаз различными микроорганизмами. *Микробиология.* 1968. Т. 37, № 6. P. 988–992.
- Alikunju A.P., Sainjan N., Silvester R., Joseph A., Rahiman M., Antony A.C., Kumaran R.C., Hatha M. Screening and characterization of cold-active β -galactosidase producing psychrotrophic *Enterobacter ludwigii* from the sediments of arctic fjord. *Appl Biochem Biotechnol.* 2016. Vol. 180 (3). P. 477–490. doi: 10.1007/s12010-016-2111-y.
- Jacob F., Monod J. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J Mol Biol.* 1961. Vol. 3. P. 318–356. doi: 10.1016/s0022-2836(61)80072-7.
- Yaroshevskaya T.V., Ilchenko S.I., Sapa N.B., Kramarenko L.N. Correction of intestinal microbiocenosis disorders in children with irritable bowel syndrome. *Sovremennaya pediatriya.* 2016. Vol. 4 (76). P. 85–90. doi: 10.15574/SP.2016.76.85. [in Rus-

- sian] / Ярошевская Т.В., Ильченко С.И., Сапа Н.Б., Крамаренко Л.Н. Коррекция нарушений кишечного микробиоценоза у детей с синдромом раздраженного кишечника. *Современная педиатрия*. 2016. Т. 4 (76). P. 85–90. doi: 10.15574/SP.2016.76.85.
6. Labeda D.P., Dunlap C.A., Rong X., Huang Y., Doroghazi J.R., Ju K.S., Metcalf W.W. Phylogenetic relationships in the family *Streptomycetaceae* using multi-locus sequence analysis. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2017. Vol. 110 (4). P. 563–583. doi: 10.1007/s10482-016-0824-0.
 7. Zakharov I.A. Location of genes in chromosomes: random or not? *Genetika*. 2010. Vol. 46 (10). P. 1320–1328. [in Russian] / Захаров И.А. Случайно ли расположение генов в хромосомах? *Генетика*. 2010. Т. 46, № 10. С. 1320–1328.
 8. Stokes H.W., Betts P.W., Hall B.G. Sequence of the *ebgA* gene of *Escherichia coli*: comparison with the *lacZ* gene. *Mol Biol Evol*. 1985. Vol. 2 (6). P. 469–477. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040372.

ПОЛІЩУК Л. В.

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ,
Україна, 03680, м. Київ, вул. Акад. Заболотного, 154, e-mail: LVPolishchuk@ukr.net*

ЗАКОНОМІРНОСТІ РОЗПОДІЛУ БЕТА-ГАЛАКТОЗИДАЗНИХ ГЕНІВ У ХРОМОСОМАХ СТРЕПТОМІЦЕТІВ

Мета. Виявити закономірності локалізації генів, що кодують бета-галактозидази (β -gal ген) в геномах стрептоміцетів. **Методи.** Аналізували генетичні карти 94 штамів стрептоміцетів, які представлені в Інтернет-базах даних сервера NCBI. **Результати.** Молекулярні розміри геномів штамів у вибірці становили від 6,84 М.п.н. до 12,7 М.п.н. Найбільша кількість геномів (43,7 %) у вибірці мають молекулярні розміри від 7,0 М.п.н. до 8,5 М.п.н. Як визначено, кількість β -gal генів у генетичних картах становила від 0 до 13. 61,3 % штамів містили в своїх геномах по 1 – 3 β -gal гени. Встановлено, що зазначені гени розташовані в геномах стрептоміцетів, як правило, в термінальних ділянках. 79 % вивчених β -gal генів мали молекулярні розміри 1,5 т.п.н. до 2,1 т.п.н. **Висновки.** Встановлено наступні закономірності локалізації β -gal генів у геномах стрептоміцетів: 1) виявлено тенденцію локалізації переважної більшості β -gal генів у термінальних ділянках геномів стрептоміцетів; 2) встановлено закономірність локалізації в коровій ділянці окремих β -gal генів як у геномах великих молекулярних розмірів, так і таких, що містять більше 8 генів; 3) у геномах стрептоміцетів містяться β -gal гени переважно розміром від 1,5 т.п.н. до 2,1 т.п.н. незалежно від молекулярних розмірів геномів і кількості β -gal генів у них.

Ключові слова: β -gal ген, геном, стрептоміцет, молекулярний розмір.

POLISHCHUK L. V.

*Zabolotny Institute of Microbiology and Virology NAS of Ukraine,
Ukraine, DO3680, Kyiv, MSP, Zabolotny str., 154, e-mail: LVPolishchuk@ukr.net*

CHROMOSOMAL LOCALIZATION PATTERNS OF BETA-GALACTOSIDASE GENES IN STREPTOMYCETES

Aim. The aim is to identify trends of localization of genes encoding beta-galactosidase (β -gal genes) in the genomes of streptomycetes. **Methods.** Genetic maps of 94 strains of streptomycetes from the NCBI server database were analyzed. **Results.** Molecular sizes of genomes from the strains sample were from 6.84 Mbp up to 12.7 Mbp. Most of genomes (43.7 %) in the sample have molecular sizes 7.0 Mbp – 8.5 Mbp. As determined, the number of β -gal genes on genetic maps ranged from 0 to 13. 61.3 % of the strains contained 1 - 3 β -gal genes in their genomes. It has been established that these genes are located in the genomes of streptomycetes, as a rule, in terminal regions. 79 % of the studied β -gal genes had a molecular size from 1.5 kb. up to 2.1 kb. **Conclusions.** The following patterns of localization of β -gal genes in the genomes of streptomycetes were established: 1) Tendency of localization of the overwhelming majority of β -gal genes in the terminal regions of streptomycete genomes; 2) Trend has been established for the localization in the core region of individual β -gal genes, both in genomes of large molecular size and containing more than 8 genes; 3) The streptomycetes genomes contain the β -gal genes mainly of the size from 1.5 kb up to 2.1 kb regardless of molecular sizes of their genomes and the number of β -gal genes in them.

Keywords: β -gal gene, genome, *Streptomyces*, molecular size.