**УДК 579.222.2 : 579.252.2 : 579.873.71** https://doi.org/10.7124/FEEO.v39.1833

**ПОЛІЩУК Л. В.**

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України,*
*Україна, 03143, м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 154, LVPolishchuk@ukr.net*

# ПОШИРЕНІСТЬ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ ВІРОГІДНИХ КЛАСТЕРІВ АГАРОЛІТИЧНИХ ГЕНІВ У СТРЕПТОМІЦЕТІВ

***Мета.*** Поліцукрид агароза є важливою складовою клітинних стінок червоних водоростей. Здатність деполімеризувати агарозу стрептоміцетами була вперше виявлена у штаму *Streptomyces coelicolor* A3(2). Довгий час цей стрептоміцет вважався єдиним представником родини, який здатен ферментувати агарозу. Вивчено шлях ферментації агарози штамом та визначено гени, які детермінують необхідні для цього ензими. Вказані гени зібрані в кластер, який розташований на хромосомі. Виявити стрептоміцети, в геномах яких містяться послідовності подібні кластеру агаролітичних генів *S. coelicolor* A3(2) та встановити генетичну спорідненість виявлених стрептоміцетів. ***Методи***. Аналізували інформацію про первинні структури геномів стрептоміцетів в базах даних на сервері NCBI. При виконанні досліджень застосовували біоінформативний метод дослідження (програма BLASTN) на сервері NCBI. Нуклеотидні послідовності агаролітичного кластеру та 16S рРНК штаму *S. coelicolor* A3(2) використовували як запити при проведенні BLASTN-аналізу. ***Результати.*** На даний час тільки в 0,12% секвенованих геномів стрептоміцетів виявлено послідовності, що подібні *aga*-кластеру *S. coelicolor* A3(2). Встановлено, що вірогідні агаролітичні кластери поширені в геномах генетично неспоріднених стрептоміцетів. ***Висновки.*** Здатність деполімеризувати поліцукрид агарозу значно частіше зустрічається у стрептоміцетів ніж вважалося раніше.

*Ключові слова*: стрептоміцет, агаролітичний кластер, генетична спорідненість, показники подібності секвенсів.

Агар це фітоколоїд, що міститься в клітинних стінках червоних водоростей (відділ *Rhodophyceae*). Сполука складається з 2 поліса-харидів (агарози та агаропектина) (Fu and Kim, 2010). Ферменти, які каталізують гідроліз агарози це α-агарази (E.C. 3.2.1.158) та β-агарази (E.C. 3.2.1.81, E.C. 3.2.1.23) залежно від зв'язків в молекулі субстрату, який гідролізує фермент. β-агараз виявлено значно більше, ніж α-агараз (Fu and Kim, 2010), наприклад в базі даних CAZy представлено сотні β-агараз прокаріот та тільки 2 α-агарази.

Агарази, у переважній більшості, виділені з мікроорганізмів морського середовища та грамнегативні бактерії з *родів Alteromonas, Pseudomonas, Vibrio, Cytophaga, Agarivorans, Thalassomonas, Pseudoalteromonas, Acinetobacter* та ряду інших (Fu and Kim, 2010; Wang et al., 2004; Yamaura et al., 1991; Zang and Li, 2007). Однак було виявлено кілька грампозитивних агаролітичних мікроорганізмів – наприклад, *Bacillus sp*. MK03, *S. coelicolor* A3(2) (Suzuki et al., 2002; Stanier, 1942).

В 1942 році вперше виявлено агаролітичної здатності стрептоміцету *S. coelicolor* A3(2) (Stanier, 1942) та розпочато дослідження шляху деполімеризації агарози штамом. Встановлено ферменти *S. coelicolor* A3(2), які гідролізують полісахарид (рис 1) та проведено визначення їх амінокислотних послідовностей A3(2) (Chi et al., 2012; Jiang et al., 2020).

Процес деполімеризації агарози починається за межами клітини β-агаразами (екзоферменти). Альфа-неоагаробіоз гідролаза та інші ферменти функціонують в цитоплазмі клітини (ендоферменти). В наслідок гідролізу агарози екзоагаразою DagA (продукт гена SCO3471) утворюються олігосахариди (неоагаротетраоза та неоагарогексаоза). В той час, екзоагараза DagB (продукт гена SCO3487), завдяки злагодженій роботі двох каталітичних доменів, здатна деполімеризувати як агарозу, так і олігосаха-

© 2026 Поліщук Л. В. This work is licensed under CC BY 4.0. To view a copy of this license, visit https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

риди до мономера неоагаробіози. Альфа-неоагаробіоз гідролаза ScJC117 (продукт гена SCO3481) гідролізує мономер неоагаробіозу на ангідролактозу та Д-галактозу. Низка ферментів (гідролази, циклоізомерази та дегідрогенази), які детермінуються генами SCO3479, SCO3480 та SCO3486 забезпечують засвоюваність клітиною утворених продуктів (Chi et al., 2012; Jiang et al., 2020).

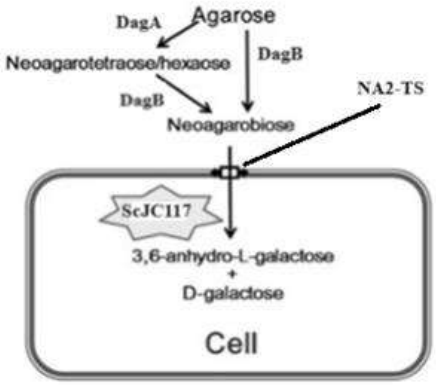



Рис. 1. Шляхи гідролізу агарози в клітинах *S. coelicolor* A3(2) (Jiang et al., 2020). Позначення: DagA і DagB – екзоβ-агарази, ScJC117 – α-неоагаробіозгідролаза, NA2-TS – система транспорту неоагаробіози.

Встановлено, що гени, продукти яких створюють шлях гідролізу агарози локалізовані поруч в послідовності хромосоми штаму *S. coelicolor* A3(2) – утворюють *aga*-кластер (рис. 2).




Рис. 2. Організація *aga*-кластера штама *S. coelicolor* A3(2) (Jiang et al., 2020). Позначення: β-agarase DagA – прекурсор екзоагарази DagA, GH2 ABG – агаролітична β-галактозідаза, ACI – ангідродролактонат циклоізомераза, NABH ScJC117 – α-неоагаробіоз гідролаза, NA2-trancport system – система транспортування неоагаробіози, regulator – регулятор транскрипції, AHGD β-agarase DagB – прекурсор екзоагарози DagB.

*Мета*: виявити в базі даних NCBI штами стрептоміцетів, геноми яких містять послідовності подібні первинній структурі *aga*-кластера *S. coelicolor* A3(2) та встановити генетичну спорідненість виявлених стрептоміцетів.

**Матеріали і методи**

Аналізували інформацію про нуклеотидні й амінокислотні послідовності, яка депонована в загальнодоступні бази даних «Whole-genome shotgun contigs (wgs)», «RefSeq genome Database (refseq_genomes)», «RefSeq Select proteins (refseq_select)» (*Streptomyces*: taxid 1883) на сервері NCBI («The National Center for Biotechnology Information»). При виконанні досліджень застосовували біоінформативний метод дослідження за допомогою програм BLASTP та BLASTN на сервері NCBI. Нуклеотидні послідовності *aga*-кластера та 16S рРНК штаму *S. coelicolor* A3(2) використовували як запити при проведенні BLASTN-аналізу. Амінокислотні послідовності репресора DagR (WP_202492491.1) *S. coelicolor* A3(2) використовували як запит при проведенні BLASTP-аналізу.

**Результати та обговорення**

В представленому дослідженні біоінформативним методом баз даних wgs та refseq_genomes з використанням послідовності *aga*-кластера штаму *S. coelicolor* A3(2) як запит було відібрано сукупність з 20 штамів, в геномах яких містилися послідовності, подібні структурі запиту. В сукупність увійшло геномні ДНК 18 штамів стрептоміцетів, які депоновані у базу даних wgs у вигляді контигів (рис. 3). У 4 стрептоміцетів з сукупності послідовності вірогідних *aga*-кластерів локалізувалися на 2 контігах. Крім того у сукупності представлено структуру хромосоми штаму *Streptomyces sp.* S4.7, що визначена повністю (complete genome).

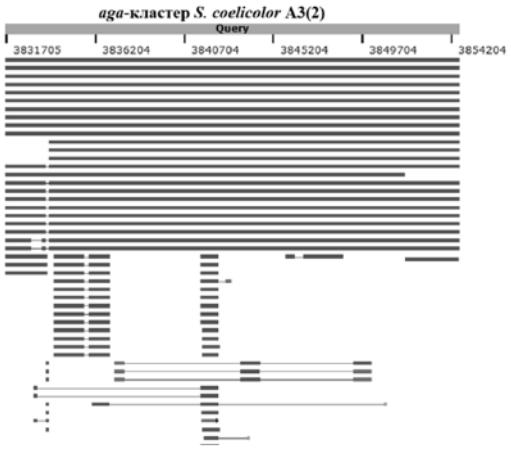



Рис. 3. Поширеність послідовностей, що подібні структурі *aga*-кластера штаму *S. coelicolor* A3(2) серед секвенсів з бази даних wgs. Позначення: query – запит.

Певна річ, у сукупності були представлені також 5 штамів, що було виявлено в попередньому нашому дослідженні (*Streptomyces sp.* SID7813, *Streptomyces sp*. NRRL B-16638,

*Streptomyces sp.* ME02-6977A, *Streptomyces sp.* SM1, *Streptomyces sp.* S4.7) (Polishchuk, 2023).

Послідовності з вибірки мали високі показники подібності структурі запиту: показники покриття (Query coverage – Qc) від 100% до 97%. Найменший показник ідентичності (I = 97,52%) було виявлено у штаму *S. rochei* 8ER183 (табл. 1). Вважається, що послідовності, які мають показники їх подібності (I) понад 80% є з великою ймовірністю гомологічними протеїнами з однаковими функціями (Chen et al., 2025).

Крім того, послідовності багатьох штамів стрептоміцетів містили фрагменти структур, що подібні певним генам – наприклад SCO3479 (продукт glycoside hydrolase family 2).

Таблиця 1. Показники подібності структурі запиту послідовностей вірогідних *aga*-кластерів стрептоміцетів

| Штами стрептоміцетів | Показники подібності | Локуси вірогідних кластерів агаролітичних генів |
|---|---|---|
| *S. coelicolor* A3(2) | ЗАПИТ | NC_003888.3 [1] (3831705 п.н. – 3854645 п.н.) [2] |
| *Streptomyces sp.* SID7813 | 100% [3]/ 100,00% [4] | WWHF01000001 (3831705 п.н. – 3854645 п.н.) |
| *S. anthocyanicus* NPDC020086 | 100% / 100,00% | JBEXZZ010000070 (710 п.н. – 23650 п.н.) |
| *Streptomyces sp.* NRRL B_16638 | 100% / 100,00% | JARAWB010000075 (1071 п.н. –-.24011 п.н.) |
| *S. anthocyanicus* NPDC020081 | 100% / 99,99% | JBEYAA010000058 (710 п.н. – 23650 п.н.) |
| *Streptomyces sp.* NPDC001273 | 90% / 98,96%<br>9% / 99,86% | JBSFIS010000095 (924 п.н. – 21668 п.н.)<br>JBSFIS010000155 (1 п.н. – 2098 п.н.) |
| *Streptomyces sp. NPDC007056* | 90% / 98,96%<br>9% / 99,86% | JBEYGM010000057(923 п.н. – 21667 п.н.)<br>JBEYGM010000079(4010 п.н. – 6107 п.н.) |
| *Streptomyces sp. NPDC007057* | 90% / 98,96%<br>9% / 99,86% | JBEYGL010000069 (243 п.н. – 20987 п.н.)<br>JBEYGL010000099 (1 п.н. – 2098 п.н.) |
| *Streptomyces sp.* ME02-6977A | 88% / 99,73%<br>12% / 100,0% | JARAYD010000020 (1 п.н. –.20193 п.н.)<br>JARAYD010000024 (1 п.н. – 2740 п.н.) |
| *Streptomyces sp.* NPDC007000 | 99% / 98,66% | JBEYHF010000058 (128 п.н. –.23713 п.н.) |
| *S griseoincarnatus* NPDC006956 | 99% / 98,62% | JBMUZY010000063 (6426 п.н. – 29995 п.н.) |
| *Streptomyces sp.* NPDC001758 | 99% / 98,41% | JBSFFS010000054 (1379 п.н. – 24955 п.н.) |
| *Streptomyces sp.* NPDC006967 | 99% / 98,39% | JBEYHS010000046 (47860 п.н. – 24285 п.н.) |
| *Streptomyces sp.* NPDC006996 | 99% / 98,38% | JBEYHI010000054 (379 п.н. – 23953 п.н.) |
| *Streptomyces sp.* S4.7 | 99% / 98,36 | NZ_CP048397 (788850 п.н. – 809597 п.н.) |
| *Streptomyces sp.* SM1 | 99% / 98,36% | NEUB01001033 (8660- п.н. - 32237 п.н.) |
| *S griseoincarnatus* NPDC007004 | 99% / 98,27% | JBEYKX010000077 (2900 п.н. – 26458 п.н.) |
| *S griseoincarnatus* NPDC006969 | 99% / 98,19% | JBEYKZ010000070 (5042 п.н. – 28600 п.н.) |
| *Streptomyces sp.* NPDC048002 | 97% / 97,60% | JBEZNL010000001 (576728 п.н. – 599612 п.н.) |
| *S. rochei* 8ER183 | 97% / 97,52% | JBGMQM010000001 (666519 п.н. – .690427 п.н.). |

*Примітки*: [1] – номер анотації послідовності в базах NCBI, [2] – фрагмент послідовності, [3] – покриття (Qc), % / [4] – ідентичність (I), %.

З моменту виділення в 1942 році і довгий час, стрептоміцет *S. coelicolor* A3(2) вважався єдиним представником родини, який здатен ферментувати агарозу (Stanier, 1942; Tsevelkhoroloo et al., 2021). Нуклеотидну послідовність генома штаму *S. coelicolor* A3(2) визначили у 2002 році (Bentley et al., 2002) (табл. 2). У подальшому було визначено і депоновано в бази даних NCBI десятки мільйонів нуклеотидних послідовностей стрептоміцетів різного молекулярного розміру – як фрагменти генів, так і повні геномні ДНК. У 2023 році BLASTN-аналізом інформації в базах даних було виявлено 5 штамів, в геномах яких присутні кластери генів, необхідних для використання агарози як джерела харчування (Polishchuk, 2023).

На даний час (березень 2026 року) в базах даних NCBI представлено 15 667 тисяч геномних ДНК стрептоміцетів (complete genome, chromosome, contig, scaffold), в тому числі і повну послідовність 1547 хромосом. Таким чином, комплекси агаролітичних генів виявлено у незначній кількості штамів з сіквенованими хромосомами – 0,12%.

Визначали спорідненість стрептоміцетів з вибірки за допомогою комп'ютеризованого аналізу з використанням як запит нуклеотидну послідовність 16S рРНК гена (SCOr03) *S coelicolor* A3(2) (рис. 4). Традиційно штам *S. coelicolor* A3(2) входить до *S. albidoflavus* групи; однак останнім часом є повідомлення, що штам може бути віднесений до *S. violaceoruber* групи) (Komaki and Tamura, 2021).

Як показано, штами *Streptomyces sp.* NRRL_B-16638, *S. anthocyanicus* NPDC020086, *S. anthocyanicus* NPDC020081, *Streptomyces sp.* ME02-6977A, *Streptomyces sp.* SID7813 та *S. coelicolor* A3(2) утворюють одну гілку на дендрограмі. Вид *S. anthocyanicus* входить до *S. violaceoruber* групи. Відповідно інформації бази даних Taxonomy (NCBI) вид *S. rochei* входить в *S. rochei* кладу, вид *S. griseoincarnatus* внесений до *S. griseoincarnatus* групи.

Таким чином, штами стрептоміцетів, геноми яких містять вірогідні *aga*-кластери здебільш не є генетично спорідненими мікроорганізмами.

Однак, в літературних джерелах не повідомлялося про стрептоміцети (крім *S. coelicolor* A3(2)), у яких було експериментально виявлено ферментацію агарози (Tsevelkhoroloo et al., 2021). Крім того, вірогідні *aga*-кластери можуть бути мовчазними і не функціонувати в умовах, в яких стрептоміцет існує (Gram, 2015).

Таблиця 2. Штами стрептоміцетів, що містять вірогідні *aga*-кластери

| Стрептоміцет | Рік депонування | Стрептоміцет | Рік депонування |
|---|---|---|---|
| *S. coelicolor* A3(2) | 2002 | *Streptomyces sp.* NPDC006967 | 2024 |
| *Streptomyces sp.* SM1 | 2018 | *Streptomyces sp.* NPDC006996 | 2024 |
| *Streptomyces sp.* SID7813 | 2020 | *S griseoincarnatus* NPDC007004 | 2024 |
| *Streptomyces sp.* NRRL B_16638 | 2023 | *S griseoincarnatus* NPDC006969 | 2024 |
| *Streptomyces sp.* ME02-6977A | 2023 | *Streptomyces sp.* NPDC048002 | 2024 |
| *S. anthocyanicus* NPDC020086 | 2024 | *S. rochei* 8ER183 | 2024 |
| *Streptomyces sp. NPDC007056* | 2024 | *S griseoincarnatus* NPDC006956 | 2025 |
| *Streptomyces sp. NPDC007057* | 2024 | *Streptomyces sp.* NPDC001273 | 2025 |
| *Streptomyces sp.* NPDC007000 | 2024 | *Streptomyces sp.* NPDC001758 | 2025 |
| *Streptomyces sp.* S4.7 | 2024 | *S. anthocyanicus* NPDC020081 | 2025 |

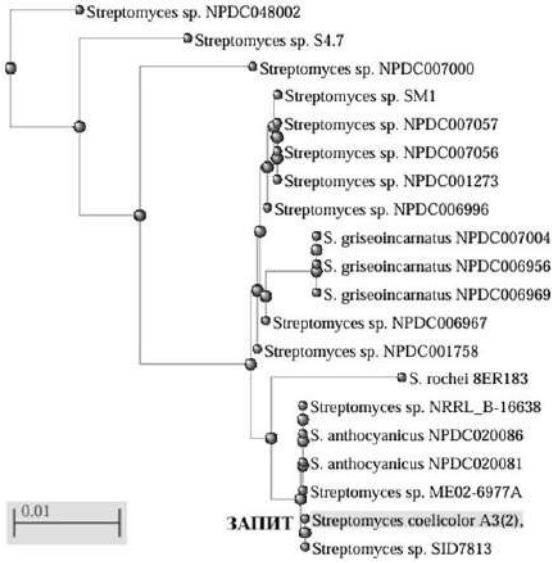



Рис. 4. Дендрограма спорідненості 20 стрептоміцетів сукупності, що базується на подібності структур їх 16S рРНК генів.

Понад 80 років штам *S. coelicolor* A3(2) вважався єдиним стрептоміцетом, який фермен-тує агарозу (Stanier, 1942; Polishchuk, 2023; Tsevelkhoroloo et al., 2021). Однак, завдяки методам молекулярної біології та біоінформатики, відбувається стрімке відкриття нових стрептоміцетів, що мають в їх геномах послідовності, подібні *aga*-кластеру *S. coelicolor* A3(2) (Polishchuk, 2023). В результаті представлених досліджень виявлено, що в геномах ще 15 штамів стрептоміцетів присутні вірогідні *aga*-кластери. На даний час тільки у дещиці секвенованих геномів стрептоміцетів (0,12%) виявлено в геномах послідовності, що подібні *aga*-кластеру *S. coelicolor* A3(2). Доведено, що виявлені стрептоміцети не є близько спорідненими – вони належать до різних клад (*S. rochei*, *S. violaceoruber*, *S. griseoincarnatus*).

**Інформація про фінансову підтримку, подяки**: відсутня.

**Конфлікт інтересів**: автор заявляє про відсутність конфлікту інтересів.

## References


1. Bentley S. D., Chater K. F., Cerdeño-Tárraga A. M., Challis G. L., Thomson N. R., James K. D., Harris D. E., Quail M. A., Kieser H., Harper D., Bateman A., Brown S., Chandra G., Chen C. W., Collins M., Cronin A., Fraser A., Goble A., Hidalgo J., Hornsby T., Howarth S., Huang C. H., Kieser T., Larke L., Murphy L., Oliver K., O'Neil S., Rabbinowitsch E., Rajandream M. A., Rutherford K., Rutter S., Seeger K., Saunders D., Sharp S., Squares R., Squares S., Taylor K., Warren T., Wietzorrek A., Woodward J., Barrell B. G., Parkhill J., Hopwood D. A. Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*. 2002. Vol. 417 (6885). P. 141–147. https://doi.org/10.1038/417141a.
2. Chen J. C., Gall B., Pulsford S. B., Tokuriki N., Jackson C. J. Exploring large protein sequence space through homology- and representation-based hierarchical clustering. *Molecular Biology and Evolution*. 2025. Vol. 42 (6). msaf136. Retrieved from: https://doi.org/10.1093/molbev/msaf136.
3. Chi W. J., Chang Y. K., Hong S. K. Agar degradation by microorganisms and agar-degrading enzymes. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2012. Vol. 94 (4). P. 917–930. https://doi.org/10.1007/s00253-012-4023-2.
4. Fu X. T., Kim S. M. Agarase: review of major sources, categories, purification method, enzyme characteristics and applications. *Marine Drugs*. 2010. Vol. 8 (1). P. 200–218. https://doi.org/10.3390/md8010200.
5. Gram L. Silent clusters – speak up! *Microbial biotechnology*. 2015. Vol. 8 (1). P. 13–14. https://doi.org/10.1111/1751-7915.12181.
6. Jiang C., Liu Z., Cheng D., Mao X. Agarose degradation for utilization: Enzymes, pathways, metabolic engineering methods and products. *Biotechnology Advances*. 2020. Vol. 45. 107641. Retrieved from: https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107641.
7. Komaki H., Tamura T. Differences at species level and in repertoires of secondary metabolite biosynthetic gene clusters among *Streptomyces coelicolor* A3(2) and type strains of *S. coelicolor* and its taxonomic neighbors. *Applied Microbiology*. 2021. Vol. 1 (3). P. 573–585. https://doi.org/10.3390/applmicrobiol1030037.
8. Polishchuk L. V. New strains of streptomycetes in which genomes clusters of genes for agarose catabolism were revealed. *Plant Physiology and Genetics*. 2023. Vol. 55 (6). P. 519–527. https://doi.org/10.15407/frg2023.06.519.
9. Stanier R. Y. Agar-decomposing strains of the *Actinomyces coelicolor* species-group. *Journal of bacteriology*. 1942. Vol. 44 (5). P. 555–570. https://doi.org/10.1128/jb.44.5.555-570.1942.
10. Suzuki H., Sawai Y., Suzuki T., Kawai K. Purification and characterization of an extracellular alpha-neoagarooligosaccharide hydrolase from *Bacillus* sp. MK03. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2002. Vol. 93 (5). P. 456–463. https://doi.org/10.1016/S1389-1723(02)80092-5.
11. Tsevelkhoroloo M., Shim S. H., Lee C. H., Hong S. K., Hong Y. S. LacI-family transcriptional regulator DagR acts asarepressor of agarolytic pathway genes in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Frontiers in Microbiology*. 2021. Vol. 6 (12). 658657. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.658657.
12. Wang J., Jiang X., Mou H., Guan H. Anti-oxidation of agar oligosaccharides produced by agarase from a marine bacterium. *Journal of Applied Phycology*. 2004. Vol. 16 (4). P. 333–340. https://doi.org/10.1023/B:JAPH.0000047944.40463.e6.

13. Yamaura I. T., Matsumoto M., Funatsu H., Shigeiri S. T. Purification and some properties of agarase from *Pseudomonas* sp. PT-5. *Agricultural and Biological Chemistry*. 1991. Vol. 55 (10). P. 2531–2536. https://doi.org/10.1080/00021369.1991.10871002.
14. Zang W., Li S. Cloning, characterization and molecular application of a beta-agarase gene from *Vibrio* sp. strain V134. *Applied and Environmental Microbiology*. 2007. Vol. 73 (9). P. 2825–2831. https://doi.org/10.1128/AEM.02872-06.

**POLISHCHUK L. V.**
*D. K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine,*
*Ukraine, 03143, Kyiv, Akademika Zabolotnoho str., 154*

**PREVALENCE OF SEQUENCES OF PROBABLE CLUSTERS OF AGAROLYTIC GENES IN STREPTOMYCETES**

***Aim***. Polysaccharide agarose is an important component of the cell walls of red algae. The ability to depolymerize agarose by streptomycetes was first detected in the *Streptomyces coelicolor* A3(2) strain. For a long time, this streptomycete was considered the only representative of the genus capable of fermenting agarose. The pathway of agarose fermentation by the strain has been studied, and the genes determining the enzymes necessary for this process have been identified. These genes are collected in a cluster located on the chromosome. To identify streptomycetes whose genomes contain sequences similar to the agarolytic gene cluster of *S. coelicolor* A3(2) and to establish the genetic relatedness of the identified streptomycetes. ***Methods***. We analyzed information on the primary structures of streptomycete genomes in databases on the NCBI server. During the research, we used a bioinformatic research method (BLASTN program) on the NCBI server. The nucleotide sequences of the agarolytic cluster and 16S rRNA of the *S. coelicolor* A3(2) strain were used as queries in the BLASTN analysis. ***Results***. At present, only 0.12% of sequenced streptomycete genomes have sequences similar to the *aga*-cluster of *S. coelicolor* A3(2). It was established that probable agarolytic clusters are widespread in the genomes of genetically unrelated streptomycetes. ***Conclusions*.** The ability to depolymerize the polysaccharide agarose occurs much more frequently in streptomycetes than previously thought.

*Keywords*: streptomycete, agarolytic cluster, genetic relatedness, sequence similarity indices.

Надходження статті: 20 квітня 2026 р.
Прийняття до друку після рецензування: 6 липня 2026 р.
Публікація: 30 листопада 2026 р.