

УДК 579.842.21:577.152.314:577.151.52

**БИОСИНТЕЗ И СЕКРЕЦИЯ
ЭНДОНУКЛЕАЗЫ *Serratia marcescens*
В ПРИСУТСТВИИ ПУРИНОВ***Р. Шах Махмуд, Л.М. Богомольная, М.Н. Филимонова***Аннотация**

Для понимания вопроса о физиологической роли эндонуклеазы *Serratia marcescens* исследовали биосинтез, секрецию и продукцию данного фермента бактериями при росте культуры на полноценной питательной среде, к которой дополнительно добавляли пурины: гуанозин монофосфат или уридин монофосфат; гуанозин или аденозин; гуанин, аденин или инозин. Показано, что, за исключением гуанозина монофосфата, добавление в питательную среду одного из перечисленных веществ не оказывало влияния на рост культуры и негативного влияния на биосинтез эндонуклеазы и продуктивность бактерий по данному ферменту.

Ключевые слова: *Serratia marcescens*, эндонуклеаза, биосинтез, секреция, мононуклеотиды, пурины.

Введение

Внеклеточная эндонуклеаза (К.Ф.3.1.30.2) граммотрицательных бактерий *Serratia marcescens* является наиболее изученным ферментом в ряду бактериальных нуклеаз с широкой субстратной специфичностью. Определены многие физико-химические и биохимические свойства этого фермента, установлены структура и механизм действия [1–14]. В последние годы были уточнены сведения о субстратной специфичности. Установлено, что в зависимости от содержания в среде катионов магния эндонуклеаза оказывает предпочтение типу углеводного остатка в составе нуклеиновых кислот [9]. Стало известно, что эндонуклеаза проявляет предпочтение к гидролизу фосфодиэфирных связей вблизи ГЦ-пар [3]. Показано, что преобладающим компонентом мононуклеотидной фракции гидролизата РНК является гуанозин монофосфат (ГМФ) в случае изоформы Sm2 или уридин монофосфат (УМФ) в случае изоформы Sm1 [5].

Учитывая сформировавшееся мнение об участии эндонуклеазы в обеспечении бактериальных клеток питанием [15], мы предположили, что в качестве питательных веществ клетки *S. marcescens* могли бы использовать нуклеотиды, образуемые эндонуклеазой при гидролизе нуклеиновых кислот, или нуклеозиды и азотистые основания при более глубоком гидролизе. В таком случае добавление в питательную среду нуклеотидов, нуклеозидов или азотистых оснований, вероятно, снижало бы продуктивность клеток по эндонуклеазе за счет уменьшения ее биосинтеза. Сравнительный анализ биосинтеза эндонуклеазы в отсутствие и в присутствии мононуклеотидов (ГМФ или УМФ), нуклеозидов

(гуанозина или аденозина) и азотистых оснований (гуанина, аденина и инозина) стал целью настоящего исследования.

Материалы и методы

В исследовании использовали бактерии *S. marcescens* W1050, любезно предоставленные профессором университета г. Хьюстона (США) М. Бенедиком.

Для исследования влияния ГМФ или УМФ на биосинтез эндонуклеазы культуру выращивали 48 ч при 30 °С с принудительной аэрацией (200 об/мин) на среде следующего состава (г/л): NaCl – 4.7, NH₄Cl – 1.1, Na₂SO₄ – 0.4, MgCl₂ – 0.095, CaCl₂ – 0.011, K₂HPO₄·3H₂O – 2.8, глюкоза – 5, гидролизат казеина – 1 и дрожжевой экстракт – 3, рН 7.5. Растворы мононуклеотидов стерилизовали отдельно при 0.5 атм. и вносили в питательную среду до конечной концентрации 0.1% перед посевом.

Для исследования влияния на биосинтез эндонуклеазы гуанозина, аденозина, гуанина, аденина и инозина культуру выращивали 36 ч при 37 °С принудительной аэрацией (200 об/мин) на среде, состав которой аналогичен описанной, в которой отсутствовал CaCl₂, а содержание MgCl₂ было в 10 раз выше. 1%-ные водные растворы гуанозина, аденозина, гуанина, аденина и инозина готовили с соблюдением правил антисептики, растворяя пурины при нагревании на кипящей водяной бане, и добавляли в питательную среду непосредственно перед посевом микроорганизмов до конечной концентрации 0.0005%.

Посевной материал, которым служила культура в стадии экспоненциального роста при исследовании нуклеотидов и в стадии стационарного роста в остальных случаях, вносили в свежую среду до достижения оптической плотности 0.16–0.2. Аликвоты отбирали каждые 1–3 ч в зависимости от фазы роста культуры.

Прирост биомассы измеряли по оптической плотности на КФК-2 при длине волны 590 нм. За единицу оптической плотности принимали такое светорассеяние, которое при длине волны 590 нм и длине оптического пути 1 см составляло величину, равную 1.

Для получения периплазматической фракции при определении влияния мононуклеотидов бактериальные клетки выделяли из 2 мл культуральной среды центрифугированием при 5000 об/мин в течение 15 мин, отмывали 6–7 раз 0.5%-ным раствором NaCl (до полного удаления с поверхности клеток не связанной с ней эндонуклеазы). Отмытые клетки помещали в гипертонический раствор, содержащий (г/л): Na₂HPO₄ – 1.5, KH₂PO₄ – 0.8, NaCl – 0.2, NH₄Cl – 0.3, глюкозы – 4, CaCl₂ – 0.01, сахарозы – 17.1, лизоцима – 1, ЭДТА – 1.5 и 10⁻³ М фенолметилсульфонилфторида, рН 7.9–8.0, и инкубировали 15 мин при комнатной температуре. Действие лизоцима останавливали охлаждением смеси до 0 °С. Фракцию периплазмы получали, отделяя сферопласты центрифугированием при 5000 об/мин в течение 15 мин. Для корректной оценки содержания внутри- и внеклеточной эндонуклеазы объем исследуемых образцов доводили до 2 мл.

При определении влияния аденина, гуанина, аденозина, гуанозина, инозина периплазму получали, взяв за основу ранее опубликованный метод [16, р. 78–79] и внося необходимые модификации. Для этого бактериальные клетки отделяли от культуральной жидкости центрифугированием в течение 10 мин при 12000 об/мин. Для удаления с поверхности клеток следов внеклеточной эндонуклеазы

клетки отмывали 4–5 раз 0.5%-ным NaCl, затем при 4 °С 2 раза 10 мМ Трис-НСl буфером, рН 8.0, каждый раз собирая центрифугированием при 5000 об/мин в течение 15 мин. Для нарушения наружной мембраны и клеточной стенки 10 мг сырой биомассы суспендировали в 0.8 мл раствора, представляющего собой 30 мМ Трис-НСl буфер, рН 8.0, и 60%-ную сахарозу. К суспензии добавляли 20 мкл 0.7%-ного фенилметилсульфонилфторида, 33 мкл 0.25 М К-ЭДТА, рН 7.0, и 1.6 мг лизоцима и инкубировали при комнатной температуре 30 мин. Подтверждением нарушения клеточной оболочки служило превращение клеток в сферопласты, которые определяли светлопольной микроскопией после предварительного окрашивания мазков по Граму. Образовавшиеся сферопласты отделяли центрифугированием при 12000 об/мин в течение 10 мин. Для подтверждения сохранения целостности клеточной мембраны при отделении сферопластов определяли оптическую плотность надосадочной жидкости при 260 и 280 нм и соотношение полученных значений. А для корректной оценки целостности клеточной оболочки при отделении бактериальных клеток от культуральной жидкости проводили анализ динамики маркерного белка – β -галактозидазы – в периплазме и культуральной жидкости, как рекомендовано в [17].

Нуклеазную активность определяли методом кислоторастворимых фракций в соответствии с рекомендациями [8].

Фосфатазную активность определяли по образованию *n*-нитрофенола при расщеплении *n*-нитрофенилфосфата (*n*-НФФ) [18]. Для этого к реакционной смеси, содержащей 0.2 М Трис-НСl буфер, рН 8.5, 50 мМ MgSO₄, 0.2% *n*-НФФ, добавляли равный объем исследуемого раствора. Смесь инкубировали при 37 °С до появления желтой окраски. Реакцию останавливали добавлением двукратного объема 0.4 Н NaOH, центрифугировали 5 мин при 5000 об/мин и определяли оптическую плотность супернатанта при 410 нм. В контроле на фермент и субстрат фермент к реакционной смеси прибавляли после добавления 0.4 Н NaOH. За единицу фосфатазной активности принимали такое количество фермента, которое за 1 ч инкубации вызывало увеличение оптической плотности при 410 нм на единицу в пересчете на 1 мл ферментного препарата.

Продуктивность культуры рассчитывали как отношение ферментативной активности к массе культуры, выраженной в миллиграммах или единицах оптической плотности культуры.

Биосинтез эндонуклеазы определяли как сумму нуклеазной активности в культуральной жидкости и периплазме. Активность фермента в периплазме ($A_{\text{пп}}$) рассчитывали по следующей формуле:

$$A_{\text{пп}} = A \cdot 80 \cdot B_{\text{сыр}} / (0.01 \cdot V),$$

где A – активность образца, ед./мл; 80 – кратность разбавления биомассы лизирующей смесью; $B_{\text{сыр}}$ – количество биомассы в мг, выделенной из питательной среды; V – объем питательной среды (1.5 мл); 0.01 – масса клеток в мг.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью подпрограммы статистического анализа графической программы Sigma plot 8.0 (Jandel Scientific Corporation, США) и программы Microsoft Excel. Проводили выбраковку данных, находили новые значения среднего арифметического и стандартного отклонения во вновь установленном доверительном 95%-ном интервале. Определение

достоверности разницы проводили с применением критерия Стьюдента, используя значения среднего арифметического и стандартной ошибки, полученные после выбраковки.

Результаты и их обсуждение

Как видно из рис. 1, добавление в среду УМФ приводило к слабым изменениям в росте культуры. По сравнению с ростом в отсутствие мононуклеотидов, что служило контролем, наблюдались небольшие вариации в длительности фазы замедления роста, а также максимальной плотности культуры, достигаемой на 32-й час роста в присутствии УМФ и на 24-й час в его отсутствие. Напротив, при культивировании бактерий на среде с ГМФ происходило удлинение экспоненциальной фазы роста почти в 2 раза и увеличение максимальной плотности культуры примерно в 1.5 раза по сравнению с контролем.

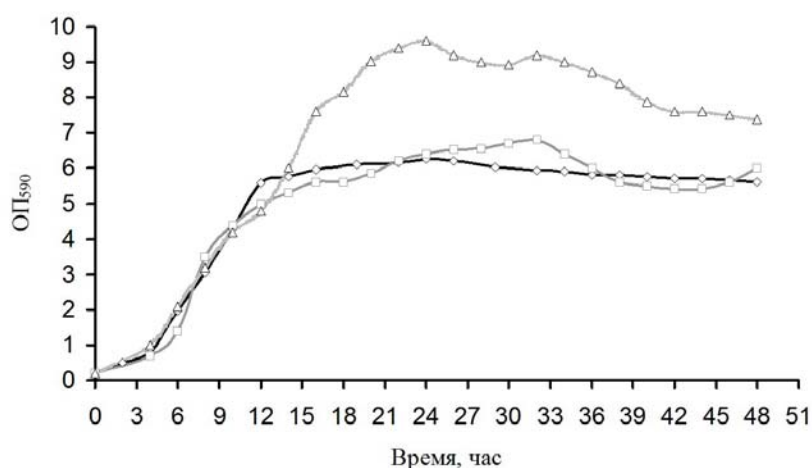


Рис. 1. Динамика роста *S. marcescens* в отсутствие (—◇—) и в присутствии ГМФ (—Δ—) или УМФ (—□—)

Динамика накопления эндонуклеазы в культуральной жидкости (рис. 2, а) в присутствии УМФ или ГМФ описывалась кривой, включающей три пика, что отличало от кривой в контроле (в отсутствие нуклеотидов), характеризующейся двумя пиками. Локализация первых двух пиков в присутствии УМФ совпадала с контролем. Эндонуклеазная активность в пиковых фракциях была выше, чем в контроле, соответственно в 1.6 и 1.3 раза. На среде с ГМФ все пики были смещены к началу культивирования по сравнению с пиками на кривой накопления эндонуклеазы в присутствии УМФ.

По сравнению с контролем максимальная активность эндонуклеазы в первом пике была почти в 2 раза выше, во втором, напротив, в 1.2 раза ниже, а в третьем — приравнивалась к активности второго пика в контроле. Кривые накопления эндонуклеазы в периплазме при культивировании бактерий в присутствии и в отсутствие ГМФ были аналогичны по форме (рис. 2, б). Однако эндонуклеазная активность в пиковых фракциях при культивировании в присутствии ГМФ была

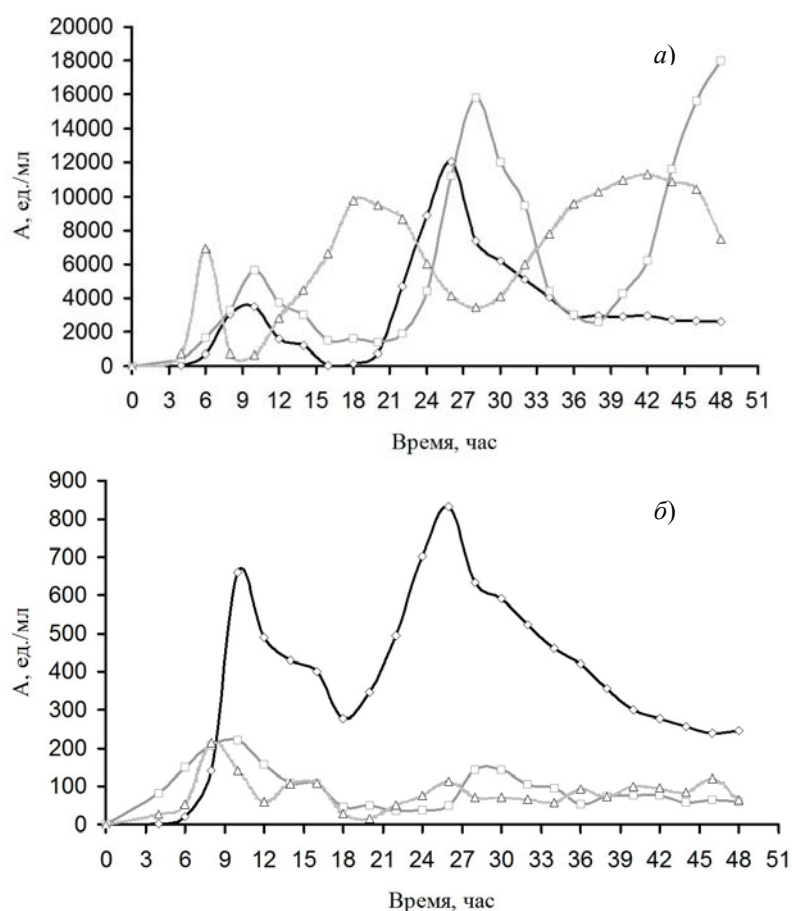


Рис. 2. Активность эндонуклеазы в отсутствие (—◇—) и в присутствии ГМФ (—△—) или УМФ (—□—) в культуральной жидкости (а) и в периплазме (б)

почти в 3 раза ниже, чем в его отсутствие (контроль). Аналогичный результат наблюдали при культивировании бактерий в присутствии УМФ. Во всех исследованных вариантах содержание эндонуклеазы в окружающей среде было выше, чем в периплазме. В целом в присутствии УМФ или ГМФ биосинтез эндонуклеазы изменялся незначительно – на 1–5%, что можно сказать и о продукции эндонуклеазы в присутствии УМФ. Продукция эндонуклеазы в присутствии ГМФ уменьшалась примерно на 15%. Из полученных результатов следовало, что бактерии *S. marcescens* могут использовать ГМФ в качестве источника питания, однако, вероятно, после дополнительного гидролиза.

Анализ динамики накопления фосфатазы в культуральной жидкости и периплазме показал, что в присутствии ГМФ происходит существенное снижение продуктивности бактерий по данному ферменту по сравнению с контролем (рис. 3). Идентичные результаты получены в присутствии УМФ. Следовательно, мононуклеотиды не использовались бактериями в качестве дополнительного источника фосфора. Вероятно, образуемые под действием фосфатазы нуклеозиды также не использовались бактериями в качестве дополнительного источника питания.

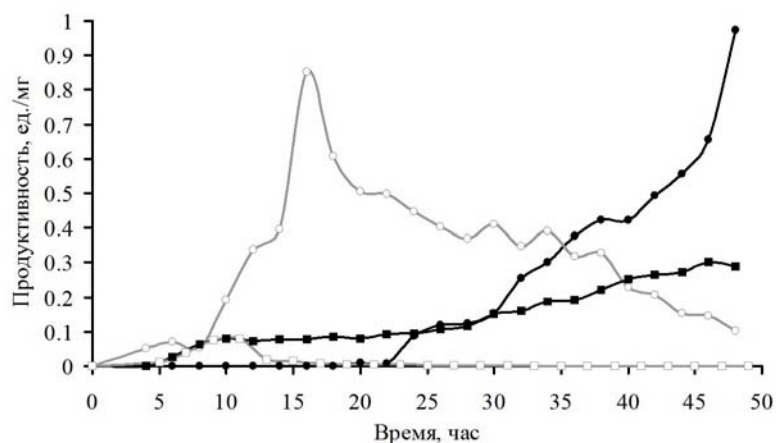


Рис. 3. Продуктивность бактерий по щелочной фосфатазе, локализованной в культуральной жидкости (—●—, —■—) и периплазме (---○---, ---□---), в присутствии (—■—, —□—) или в отсутствие (---●---, ---○---) ГМФ

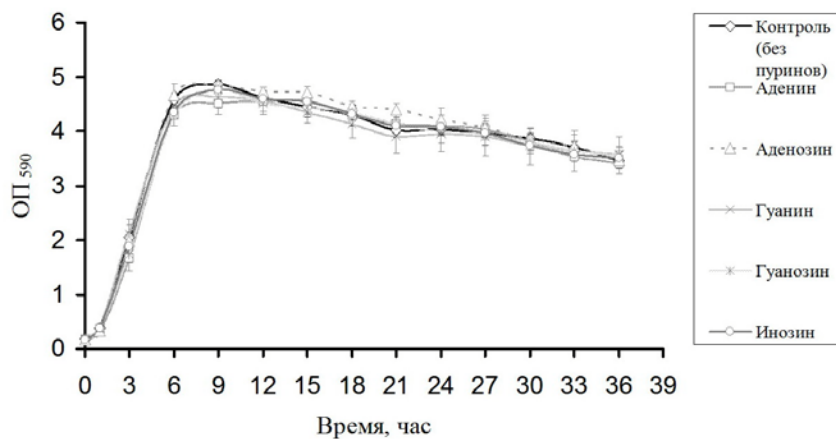


Рис. 4. Динамика роста *S. marcescens* в присутствии и в отсутствие пуринов

Исследование влияния на рост культуры и биосинтез эндонуклеазы гуанина и гуанозина показало следующее.

Ни гуанин, ни гуанозин не оказывали влияния на рост культуры (см. рис. 4).

Присутствие в среде гуанина или гуанозина приводило к увеличению в 2–3 раза уровня нуклеазной активности в культуральной жидкости (рис. 5, а) и некоторому снижению в периплазме (рис. 5, б). При этом, как видно из рис. 6, ни продуктивность бактерий по эндонуклеазе, ни количество эндонуклеазы, синтезированной за 36 ч роста, не зависели от присутствия в среде гуанина и возрастали примерно на 15% в присутствии гуанозина.

Замена в среде гуанина на аденин, аденозин не влияла на результат. Результат, полученный в присутствии инозина, приближался к данным по гуанозину. Во всех исследованных вариантах наблюдали повышенную по сравнению с контролем экскрецию эндонуклеазы, что изменяло соотношение внутриклеточной и внеклеточной фракций эндонуклеазы в пользу последней.

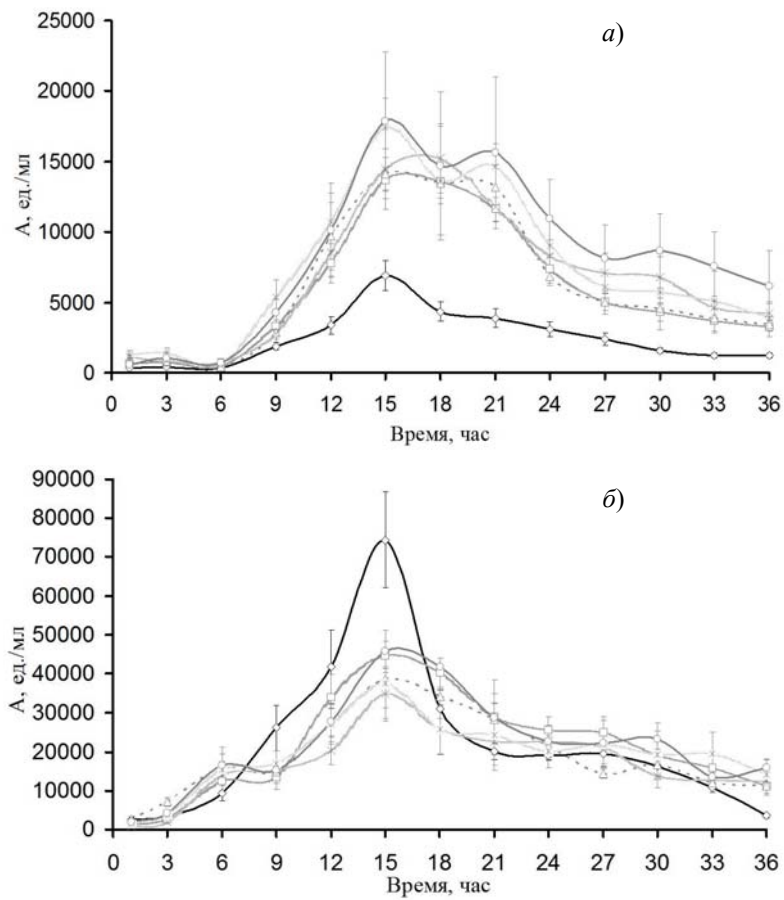


Рис. 5. Динамика накопления эндонуклеазы в культуральной жидкости (а) и периплазме (б) в отсутствие (—◇—) и в присутствии аденина (—□—), аденозина (—△—), гуанина (—×—), гуанозина (—), инозина (—○—)

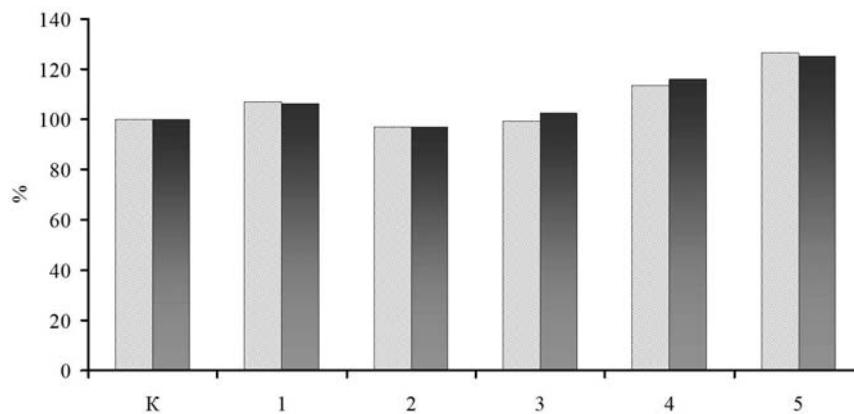


Рис. 6. Биосинтез (■) эндонуклеазы и продуктивность (■) бактерий по эндонуклеазе в отсутствие (К – контроль) и в присутствии аденина (1), аденозина (2), гуанина (3), гуанозина (4), инозина (5)

Таким образом, установлено, что добавление к полноценной питательной среде пуринов: гуанина, аденина, инозина, гуанозина, аденозина и ГМФ, а также УМФ не вызывало подавления биосинтеза эндонуклеазы и, за исключением ГМФ, не снижало продуктивность культуры по эндонуклеазе и не влияло на рост культуры. Следовательно, пурины, подвергнутые сравнительному анализу, не являются питательными веществами, для получения которых клетки *S. marcescens* синтезируют эндонуклеазу при росте на полноценной питательной среде.

Литература

1. Biedermann K., Jepsen P., Riise E., Svendsen I. Purification and characterization of a *Serratia marcescens* nuclease produced by *Escherichia coli* // Carlsberg Res. Commun. – 1989. – V. 54, No 1. – P. 17–27.
2. Miller M., Tanner J., Alpaugh M., Benedik M., Krause K. 2.1 Å structure of *Serratia* endonuclease suggests a mechanism for binding to double-stranded DNA // Nat. Struct. Biol. – 1994. – V. 1, No 7. – P. 461–468.
3. Friendhoff P., Kolmes B., Gimadudinow O., Wende W., Krause K., Pingoud A. Analysis of the mechanism of the *Serratia* nuclease using site-directed mutagenesis // Nucleic Acids Res. – 1996. – V. 24, No 14. – P. 2632–2639.
1. Педерсен Ю., Андерсен Ж., Роенсторф П., Филимонова М.Н., Бидерман К. Нуклеаза *Serratia marcescens*. I. Сравнение природной и рекомбинантной нуклеаз с использованием электроспрей-масс-спектрометрии // Биоорганическая химия. – 1995 – Т. 21, Вып. 5. – С. 330–335.
5. Филимонова М.Н., Гарусов А.В., Сметанина Т.А., Андреева М.А., Богомольная Л.М., Лецинская И.Б. Изоформы нуклеазы *Serratia marcescens*. Сравнительный анализ субстратной специфичности // Биохимия. – 1996. – Т. 61, Вып. 10. – С. 1800–1806.
6. Филимонова М.Н., Губская В.П., Нуретдинов И.А., Бенедик М.Дж., Богомольная Л.М., Андреева М.А., Лецинская И.Б. Изоформы нуклеазы *Serratia marcescens*. Роль ионов Mg^{2+} в механизме гидролиза // Биохимия. – 1997. – Т. 62, Вып. 9. – С. 1148–1154.
7. Филимонова М.Н., Бенедик М.Дж., Уразов Н.Г., Лецинская И.Б. Полидисперсность нуклеазы *Serratia marcescens* при оптимальном значении pH // Прикл. биохим. и микробиол. – 1999. – Т. 35, № 1. – С. 20–24.
8. Nestle M., Roberts W.K. An extracellular nuclease from *Serratia marcescens*. I. Purification and some properties of the enzyme // J. Biol. Chem. – 1969. – V. 244, No 19. – P. 5213–5218.
9. Романова Ю.Д., Губская В.П., Нуретдинов И.А., Сусарова А.А., Филимонова М.Н. О механизме регуляции активности эндонуклеазы *Serratia marcescens* катионами магния // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естественные науки. – 2008. – Т. 150, кн. 2. – С. 176–185.
10. Лецинская И.Б., Балабан Н.П., Егорова Г.С., Тяняшин В.И., Третьяк Т.М. Получение и характеристика высокоочищенного препарата нуклеазы *Serratia marcescens* // Биохимия. – 1974. – Т. 39, Вып. 1. – С. 116–122.
11. Filimonova M.N., Krause K.L., Benedik M.J. Kinetic studies of the *Serratia marcescens* extracellular nuclease isoforms // Biochem. Mol. Biol. Int. – 1994. – V. 33, No 6. – P. 1229–1236.
12. Филимонова М.Н., Балабан Н.П., Шарипова М.Р., Лецинская И.Б. Получение нуклеазы *Serratia marcescens* в гомогенном состоянии и изучение физико-химических свойств фермента // Биохимия. – 1980. – Т. 45, Вып. 11. – С. 2096–2103.

13. Филимонова М.Н., Баратова Н.П., Воспельникова Н.Д., Желтова А.О., Лещинская И.Б. Эндонуклеаза *Serratia marcescens*. Характеристика фермента // Биохимия. – 1981. – Т. 46, Вып. 9. – С. 1660–1666.
14. Филимонова М.Н., Бенедик М.Дж. Нуклеаза *Serratia marcescens*. Отношение концентраций фермента и субстрата для проявления максимальной активности // Биохимия. – 1995. – Т. 60, Вып. 9. – С. 1449–1500.
15. Беляева М.И., Капранова М.Н., Витол М.Я., Голубенко И.А., Лещинская И.Б. Использование нуклеиновых кислот в качестве основного источника питания бактерий // Микробиология. – 1976. – Т. 45, Вып. 3. – С. 420–424.
16. Gerhardt P., Murray R.G.E., Wood W.A., Krieg N.R. (eds.) Methods for general and molecular bacteriology. – Washington, D.C.: Am. Soc. Microbiol., 1994. – XII + 791 p.
17. Богомольная Л.М. Влияние условий культивирования и некоторых экзогенных факторов на биосинтез и секрецию изоформ эндонуклеазы *Serratia marcescens*: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Казань, 2000. – 20 с.
18. Куриненко Б.М., Лещинская И.Б. Методы изучения основных каталитических свойств нуклеаз // Современные методы изучения нуклеиновых кислот и нуклеаз микроорганизмов / Науч. ред. И.Б. Лещинская. – Казань: Изд-во Казан. ун-та, 1980. – С. 67–75.

Поступила в редакцию
24.11.09

Шах Махмуд Райхан – аспирант кафедры микробиологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.
E-mail: raihan.shah@gmail.com

Богомольная Лидия Михайловна – выпускник кафедры микробиологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

Филимонова Мария Николаевна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник кафедры микробиологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.
E-mail: maria.filimonova@ksu.ru

* * *

BIOSYNTHESIS AND SECRETION OF *Serratia marcescens* ENDONUCLEASE IN THE PRESENCE OF PURINES

R. Shah Mahmud, L.M. Bogomolnaya, M.N. Filimonova

Abstract

To understand the physiological role of *Serratia marcescens* endonuclease, we studied the biosynthesis, secretion and production of this enzyme during the growth of the culture in a synthetic medium which additionally contained purines (guanosine monophosphate or uridine monophosphate; guanosine or adenosine; guanine, adenine, or inosine). The addition of any of the listed substances (except for guanosine monophosphate) to the medium did not have neither any impact on the growth of the culture nor any negative impact on the endonuclease biosynthesis and the productivity of bacteria in relation to this enzyme.

Keywords: *Serratia marcescens*, endonuclease, biosynthesis, secretion, mononucleotides, purines.

References

1. Biedermann K., Jepsen P., Riise E., Svendsen I. Purification and characterization of a *Serratia marcescens* nuclease produced by *Escherichia coli*. *Carlsberg Res. Commun.*, 1989, vol. 54, no. 1, pp. 17–27.

2. Miller M., Tanner J., Alpaugh M., Benedik M., Krause K. 2.1 Å structure of *Serratia* endonuclease suggests a mechanism for binding to double-stranded DNA. *Nat. Struct. Biol.*, 1994, vol. 1, no. 7, pp. 461–468.
3. Friendhoff P., Kolmes B., Gimadutdinov O., Wende W., Krause K., Pingoud A. Analysis of the mechanism of the *Serratia* nuclease using site-directed mutagenesis. *Nucleic Acids Res.*, 1996, vol. 24, no. 14, pp. 2632–2639.
4. Pedersen J., Andersen G., Roepstorff P., Filimonova M.N., Biedermann K. *Serratia marcescens* nuclease. I. A comparison of natural nuclease and recombinant nuclease using electrospray mass spectrometry. *Bioorgan. Khimiya*, 1995, vol. 21, no. 5, pp. 330–335. (In Russian)
5. Filimonova M.N., Garusov A.V., Smetanina T.A., Andreeva M.A., Bogomolnaya L.M., Leshchinskaya I.B. Isoforms of *Serratia marcescens* nuclease. A comparative analysis of substrate specificity. *Biokhimiya*, 1996, vol. 61, no. 10, pp. 1800–1806. (In Russian)
6. Filimonova M.N., Gubskaya V.P., Nuretdinov I.A., Benedik M.J., Bogomolnaya L.M., Andreeva M.A., Leshchinskaya I.B. Isoforms of *Serratia marcescens* nuclease. The role of Mg²⁺ ions in the mechanism of hydrolysis. *Biokhimiya*, 1997, vol. 62, no. 9, pp. 1148–1154. (In Russian)
7. Filimonova M.N., Benedik M.J., Urazov N.G., Leshchinskaya I.B. Polydispersity of *Serratia marcescens* nuclease at optimal pH values. *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.*, 1999, vol. 35, no. 1, pp. 20–24. (In Russian)
8. Nestle M., Roberts W.K. An extracellular nuclease from *Serratia marcescens*. I. Purification and some properties of the enzyme. *J. Biol. Chem.*, 1969, vol. 244, no. 19, pp. 5213–5218. (In Russian)
9. Romanova Yu.D., Gubskaya V.P., Nuretdinov I.A., Susarova A.A., Filimonova M.N. On the mechanism of regulation of the *Serratia marcescens* endonuclease activity by magnesium cations. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2008, vol. 150, no. 2, pp. 176–185. (In Russian)
10. Leshchinskaya I.B., Balaban N.P., Egorova G.S., Tanyashin V.I., Tretyak T.M. The production and characteristics of a highly purified preparation of *Serratia marcescens* nuclease. *Biokhimiya*, 1974, vol. 39, no. 1, pp. 116–122. (In Russian)
11. Filimonova M.N., Krause K.L., Benedik M.J. Kinetic studies of the *Serratia marcescens* extracellular nuclease isoforms. *Biochem. Mol. Biol. Int.*, 1994, vol. 33, no. 6, pp. 1229–1236.
12. Filimonova M.N., Balaban N.P., Sharipova M.R., Leshchinskaya I.B. The production of *Serratia marcescens* nuclease in a homogeneous state and the study of the physical and chemical properties of the enzyme. *Biokhimiya*, 1980, vol. 45, no. 11, pp. 2096–2103. (In Russian)
13. Filimonova M.N., Baratova N.P., Vospelnikova N.D., Zheltova A.O., Leshchinskaya I.B. *Serratia marcescens* endonuclease. The characteristics of the enzyme. *Biokhimiya*, 1981, vol. 46, no. 9, pp. 1660–1666. (In Russian)
14. Filimonova M.N., Benedik M.J. *Serratia marcescens* nuclease. The ratio of enzyme to substrate for maximum activity. *Biokhimiya*, 1995, vol. 60, no. 9, pp. 1449–1500. (In Russian)
15. Belyaeva M.I., Kapranova M.N., Vitol M.Ya., Golubenko I.A., Leshchinskaya I.B. The use of nucleic acids as a primary power source for bacteria. *Mikrobiologiya*, 1976, vol. 45, no. 3, pp. 420–424. (In Russian)
16. Gerhardt P., Murray R.G.E., Wood W.A., Krieg N.R. (eds.) *Methods for general and molecular bacteriology*. Washington, D.C., Am. Soc. Microbiol., 1994. XII + 791 p.
17. Bogomolnaya L.M. The influence of culturing conditions and some exogenous factors on the biosynthesis and secretion of the *Serratia marcescens* endonuclease isoforms. *Extended Abstract of Cand. Biol. Sci. Diss.* Kazan, 2000. 20 p. (In Russian)
18. Kurinenko B.M., Leshchinskaya I.B. Methods of studying the basic catalytic properties of nucleases. *Modern methods of studying nucleic acids and nucleases of microorganisms*, I.B. Leshchinskaya (ed.). Kazan, Izd. Kazan. Univ., 1980, pp. 67–75. (In Russian)

Received
November 24, 2009

Shah Mahmud Raihan – PhD Student, Department of Microbiology, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: *raihan.shah@gmail.com*

Bogomolnaya Lidiya Mikhailovna – Graduating Student, Department of Microbiology, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

Filimonova Mariya Nikolaevna – Doctor of Biology, Principal Research Fellow, Department of Microbiology, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: *maria.filimonova@ksu.ru*