

УДК 57.021

**ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ЭНДОНУКЛЕАЗЫ  
В КОМБИНАЦИИ С «БЕТАДИНОМ» НА ДРОЖЖИ  
*Saccharomyces cerevisiae***

Э.Ф. Зайнутдинова, М.Н. Филимонова

**Аннотация**

Установлено, что под действием эндонуклеазы происходит угнетение роста культуры эукариот *Saccharomyces cerevisiae*, особенно выраженное в условиях, обеспечивающих нарушение клеточной оболочки. В частности, показано, что 15-минутная инкубация в присутствии эндонуклеазы приводит к подавлению роста культуры, сокращая число КОЕ почти в 2 раза. 15-секундная инкубация в присутствии исходного и разбавленного в 100 раз «Бетадина» (конечное содержание повидон-йода от 0.05% до 5.0%) приводит к полной утрате жизнеспособности культуры. Разбавление «Бетадина» в 500–1000 раз (конечное содержание повидон-йода от 0.005% до 0.01%) позволяет сохранить жизнеспособность культуры, которая по сравнению с контролем уменьшается на 30–45% после 3–6 мин. Сочетанное действие разбавленного «Бетадина» и эндонуклеазы усиливает подавление роста культуры в 2 раза.

**Ключевые слова:** *Saccharomyces cerevisiae*, повидон-йод, эндонуклеаза.

**Введение**

Эндонуклеаза бактерий *Serratia marcescens*, представляя ряд эволюционно родственных и широко распространенных в мире про- и эукариот нуклеодеполимераз, является одной из наиболее изученных бактериальных нуклеаз, проявляющих широкую субстратную специфичность. Известны многие физико-химические и биохимические свойства, структура, каталитически значимые аминокислотные остатки, разработаны модели механизма действия и механизмов регуляции активности данного фермента. Сведения о ней представлены в ряде банков данных [1–4]. Эндонуклеазу применяют на практике как противовирусный препарат, а также как биохимический реактив [5–7]. В качестве противовирусного препарата показана перспективность использования этого фермента при лечении животных [8, 9]. Установлено, что противовирусный эффект возрастает при комбинировании эндонуклеазы с йодсодержащими препаратами: «Йодохлорином» или «Бетадином» [10, 11]. Кроме того, известно, что под действием эндонуклеазы *S. marcescens* происходит торможение роста асцитной опухоли Эрлиха [12].

Вместе с этим есть сведения о том, что присутствие в среде эндонуклеазы с соответствующей активностью и в определенной концентрации может привести к повышению скорости размножения клеток про- или эукариот при условии, что эти клетки находятся в определенном физиологическом состоянии [13, 14]. Данный эффект авторы объясняют стимуляцией синтеза ДНК за счет увеличения

точек инициации репликации под действием эндонуклеазы, которая, как ими было установлено, проникает внутрь клетки. Как стимуляция, так и торможение роста эндонуклеазой представляют интерес, в том числе и с практической точки зрения. В связи с этим мы провели оценку действия эндонуклеазы на клетки до и после инкубации с «Бетадином», что соответствовало цели настоящего исследования. «Бетадин» применяли в качестве агента, повреждающего клеточную оболочку, так как известно, что механизм его антисептического действия сводится в конечном счете к нарушению клеточной оболочки, в частности цитоплазматической мембраны, с образованием пор [15]. Вероятно, в результате диффузии через образовавшиеся поры может происходить перераспределение веществ между клеткой и средой, что было показано на примере фермента  $\beta$ -галактозидазы и нуклеотидсодержащих материалов. Поскольку молекулярная масса  $\beta$ -галактозидазы в несколько раз больше массы эндонуклеазы *S. marcescens* мы предположили, что через поры, образующиеся под действием «Бетадина», может происходить перераспределение между клеткой и средой не только  $\beta$ -галактозидазы и нуклеотидсодержащих материалов, но и эндонуклеазы. Нарушение клеточной оболочки, сопровождаемое множественными повреждениями клеток, приводит в целом к утрате жизнеспособности культуры, что зависит от содержания в среде повидон-йода – основного компонента «Бетадина», определяющего его антисептический эффект. В частности, мы недавно показали на примере прокариот [16], что в присутствии разбавленного в  $10^{-2}$ – $10^{-5}$  раз «Бетадина» культура сохраняла жизнеспособность, которая варьировала в пределах 3–50%, соответственно. Тогда же электронно-микроскопическим исследованием было установлено, что инкубация культуры с «Бетадином», разбавленным в 2500 раз, приводила к повреждению пограничных слоев клеток, изменению хроматина в ядерном материале и отхождению цитоплазматической мембраны внутрь цитозоля. В ходе этих же исследований было замечено, что инкубация бактерий с «Бетадином» в комбинации с эндонуклеазой усиливала повреждающий эффект, что морфологически проявлялось практически полной утратой границ между периплазмой, цитоплазмой, клеточной стенкой, цитоплазматической мембраной и областью нуклеоида, в результате чего клетки представляли собой смесь бессистемно расположенных фрагментов различной электронной плотности. Такой результат позволил констатировать сочетанное действие «Бетадина» и эндонуклеазы, что послужило косвенным свидетельством попадания эндонуклеазы внутрь поврежденных клеток.

Основой исследований явилась оценка эффективности действия эндонуклеазы на клетки с поврежденной оболочкой. Оценочным критерием повреждения клеток под действием «Бетадина» служило снижение жизнеспособности культуры. Ранее получив положительные результаты на клетках бактерий [16], мы выдвинули предположение, что и для форм с иной организацией клеточных оболочек эффект комбинирования «Бетадина» и эндонуклеазы сработает. Наиболее простой и удобной моделью эукариотической клетки явились одноклеточные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* (класс: Saccharomycetes). Изучение влияния экзогенных нуклеаз на жизнеспособность спорогенных дрожжей, являющихся представителями эукариот, приближало уровень исследований к биологическим объектам более высокой формы организации по сравнению с бактериями.

## 1. Экспериментальная часть

В исследовании использовали коммерческий препарат «Бетадин», содержание повидон-йода в котором составляло 10% (Фармацевтический завод ЭГИС А.О., Венгрия).

Гомогенный препарат эндонуклеазы, содержащий практически в равных количествах изоформы Sm1 и Sm2, был выделен и охарактеризован, как описано ранее [17, 18]. Для получения растворов, соответствующих условиям эксперимента, исходный (водный) раствор эндонуклеазы с активностью 228800 ед./мл и содержанием белка 0.175 мг/мл разбавляли концентрированным Трис-НСI буфером, рН 8.5, включающим  $MgSO_4$ .

Ферментативную активность определяли методом кислоторастворимых фракций в соответствии с рекомендациями [19, 20]. За единицу активности принимали такое количество фермента, которое вызывало увеличение  $A_{260}$  в 1 мл раствора на 1 опт. ед. за 1 ч инкубации при 37 °С (ед./мл). Содержание белка определяли адсорбционной спектрометрией при 280 нм, используя  $\epsilon_{280} 47292 M^{-1}\cdot cm^{-1}$  [21].

Культуру *S. cerevisiae* выращивали 18–24 ч при 26–28 °С на агаризованной среде Сабуро, включающей (г/л): глюкозу – 10.0, пептон – 10.0, дрожжевой экстракт – 5.0, NaCl – 0.25. Для получения клеточной суспензии делали смыв культуры стерильной водой (5 мл).

Плотность (ОП или  $D_{opt}$ ) клеточной суспензии оценивали нефелометрически при красном светофилтре (ФЭК-56,  $\lambda$  590 нм,  $l$  10 мм). Количество биомассы выражали в единицах светорассеяния.

Жизнеспособность культуры оценивали, определяя число КОЕ (колониеобразующих единиц), для чего биомассу высевали на плотную питательную среду, применяя метод последовательных разведений, и инкубировали 20–24 ч при 26–28 °С.

Эффективность действия «Бетадина» в зависимости от содержания в среде повидон-йода определяли в прямом контакте, смешивая в равных частях клеточную суспензию и «Бетадин» и инкубируя полученную смесь 15 с или 3 мин в темноте при 25–28 °С, а затем оценивали жизнеспособность. В качестве контроля использовали клеточную суспензию без инкубации с «Бетадином», которую принимали за 100%. Предварительно суспензию разбавляли стерильной водой до  $D_{opt} = 0.07$  ед./мл. Для уменьшения содержания повидон-йода «Бетадин» непосредственно перед смешиванием разбавляли стерильной дистиллированной водой в 10–1000 раз.

При определении влияния эндонуклеазы на жизнеспособность *S. cerevisiae* клеточную суспензию ( $D_{opt} = 0.07$  ед./мл) смешивали с равным объемом буферного раствора эндонуклеазы (0.2 М Трис-НСI, рН 8.5, 0.02 М  $MgSO_4$ ), который содержал 0.44 или 2.2 мкг/мл фермента, и инкубировали 15 или 30 мин при 4–8 °С с целью оценки зависимости эффекта от содержания фермента в среде и времени инкубации (рис. 1, а). Затем определяли жизнеспособность культуры. За 100% принимали число КОЕ на момент смешивания суспензии и ферментного раствора.

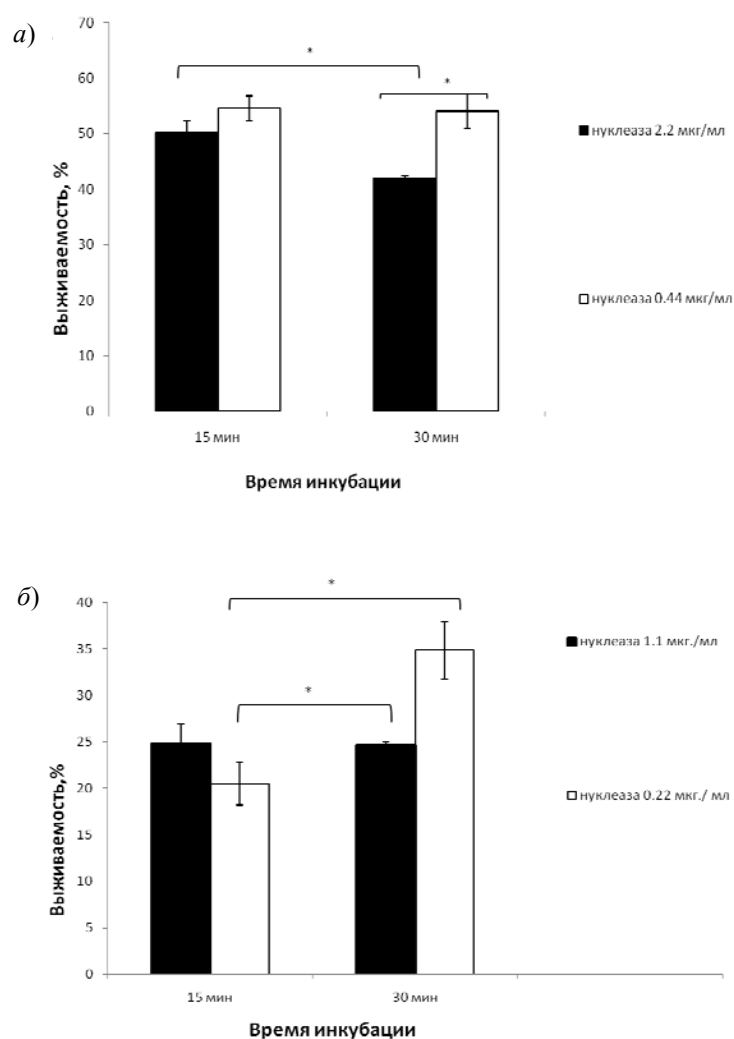


Рис. 1. Изменение жизнеспособности клеточной суспензии под действием эндонуклеазы (а) и при сочетанном действии «Бетадина» и эндонуклеазы (б) ( $n = 12$ ),  $p = 0.0125$

При оценке сочетанного действия «Бетадина» и эндонуклеазы клеточную суспензию инкубировали 6 мин (в темноте) в присутствии предварительно разбавленного «Бетадина» (содержание в инкубационной среде повидон-йода 0.01%), затем смешивали с равным объемом буферного раствора эндонуклеазы, содержащего 0.44 или 2.2 мкг/мл фермента, и инкубировали 15 или 30 мин при 4–8 °С, после чего определяли жизнеспособность. Конечное содержание фермента в смеси составляло 0.22 или 1.1 мкг/мл (рис. 1, б).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы статистического анализа графической программы Sigma plot 8.0 и программы Microsoft Excel. Сравнение полученных результатов проводили с использованием параметрических критериев различия (оценка достоверности разности  $t_d$ , критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественного сравнения). Для оценки достоверной разницы групп данных принимали достаточным уровень

значимости  $p = 0.05$  для достоверной разницы групп данных. На графиках представлены 95%-ные доверительные интервалы для истинных средних.

## 2. Результаты и их обсуждение

Хотя известно, что 15-секундная инкубация в присутствии 0.005–1% повидон-йода приводит к полной утрате жизнеспособности микроорганизмов [22], в то же время установлено, что даже в присутствии 0.02% повидон-йода жизнеспособность культуры грамотрицательных бактерий *S. marcescens* снижается не полностью [16]. В результате исследования концентрационной зависимости эффективности действия повидон-йода на *S. cerevisiae* были получены сходные значения. Так, 15-секундная инкубация в присутствии 0.05–5% повидон-йода приводила к полной утрате жизнеспособности клеточной суспензии, в то время как снижение содержания повидон-йода сохраняло жизнеспособность суспензии. Как видно из рис. 2, в результате 3-минутной инкубации суспензии в присутствии 0.005–0.01% повидон-йода жизнеспособность снижалась на 30–45%. Двукратное увеличение времени инкубации не оказывало принципиального влияния на результат, что, вероятно, обусловлено свойствами самого повидон-йода. Известно, что наибольшее поражающее действие повидон-йод («Бетадин») оказывает в первые минуты контакта [23].

Результаты оценки эффективности действия эндонуклеазы на *S. cerevisiae* без предварительной инкубации клеточной суспензии с «Бетадином» представлены на рис. 1, а. Как видно из этого рисунка, 15-минутная инкубация с эндонуклеазой, содержание которой в инкубационной среде изменялось от 0.44 до 2.2 мкг/мл (572 и 2860 ед. акт./мл соответственно), сокращала число КОЕ почти в 2 раза. Увеличение продолжительности инкубации в 2 раза не оказывало существенного влияния на результат. Подавление роста клеточной суспензии эндонуклеазой, о чем свидетельствовало изменение числа КОЕ, не противоречило ранее опубликованным данным, из которых следовало, что присутствие в среде высокоочищенной эндонуклеазы может приводить не только к увеличению скорости размножения дрожжей, но и, напротив, к угнетению их роста. В частности, стимуляцию роста культуры *Candida tropicalis* наблюдали в результате инкубации в присутствии 0.2 мкг/мл эндонуклеазы, а в присутствии 0.4 мкг/мл, напротив, было отмечено угнетение роста [13].

При исследовании сочетанного действия «Бетадина» и эндонуклеазы было установлено, что инкубация клеточной суспензии в присутствии разбавленного «Бетадина» усиливала эффективность действия эндонуклеазы. Об этом, в частности, свидетельствовало дополнительное уменьшение выживаемости почти в 2 раза (рис. 1, б). Изменение содержания фермента в среде при 15-минутной инкубации с эндонуклеазой, как видно из рисунка, не оказывало значительного влияния на полученный результат. Эффективность сочетанного действия выше эффективности действия отдельно взятой эндонуклеазы в 2 раза, а разбавленного «Бетадина» почти в 3 раза. Результаты парного двухвыборочного  $t$ -теста для средних показывают, что между эффективностью сочетанного действия и эффективностью действия отдельно взятой эндонуклеазы существует статистически значимая разница (эмпирические значения  $t$ -критерия составляют 4.81, 9.88, 5.24, 4.44 и превышают табличное значение  $t = 2.98$  ( $p = 0.05$ )).

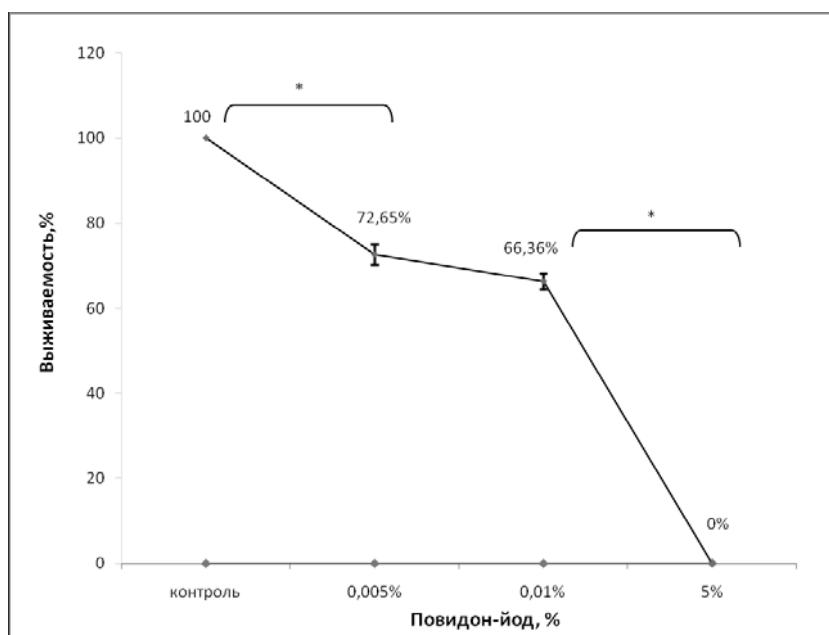


Рис. 2. Изменение жизнеспособности *S. cerevisiae* под действием «Бетадина» ( $n = 9$ ); звездочкой отмечены группы, различающиеся статистически значимо,  $p = 0.0125$

Поскольку на примере грамотрицательных бактерий мы показали, что частичное снижение жизнеспособности культуры под действием разбавленного «Бетадина» сопряжено с множественными повреждениями в клеточных компартаментах, включая цитоплазматическую мембрану [16], мы считаем, что и изменение жизнеспособности эукариот *S. cerevisiae* под действием «Бетадина» (рис. 2) является следствием аналогичных повреждений. Образовавшие под действием «Бетадина» поры могут послужить входными воротами эндонуклеазе при их сочетанном действии, проникновение через которые в цитоплазму приведет к гидролизу эндонуклеазой стерически доступных субстратов, в первую очередь молекул РНК. Такая последовательность событий не может не отразиться на жизнеспособности культуры, что согласуется с полученными результатами (рис. 1).

Оценка действия эндонуклеазы на клетки до и после инкубации с «Бетадином» показала, что под действием эндонуклеазы происходит угнетение роста культуры *S. cerevisiae*, особенно выраженное в условиях, способствующих попаданию эндонуклеазы в клетки эукариот. К последнему ведет сочетание препаратов, различающихся механизмом и мишенью действия и относящихся к разным классам химических соединений: комплексным элементоорганическим полимерам и высокомолекулярным полипептидам микробного происхождения, применяемым на практике в медицине, биологии и сельском хозяйстве.

Таким образом, настоящим исследованием показана перспективность создания комбинированного препарата на основе «Бетадина» и эндонуклеазы *Serratia marcescens*, активность которого выше, чем активность составляющих его препаратов, отличающегося от «Бетадина» пониженным окислительным эффектом.

## Литература

1. Brenda: The comprehensive enzyme informational system. – URL: <http://www.brenda-enzymes.org>, свободный.
2. RCSB: Protein Data Bank. – URL: <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>, свободный.
3. Protein Data Bank in Europe. – URL: <http://www.ebi.ac.uk/pdbe/>, свободный.
4. SCOP: Structural Classification of Proteins. – URL: <http://scop.mrc-lmb.cam.ac.uk/scop/>, свободный.
5. Панфилова З.И., Салганик Р.И. Получение мутантов *Serratia marcescens* суперпродукторов эндонуклеазы путем воздействия нитрозометилмочевинной на синхронизированную культуру // Микробиология. – 1983. – Т. 52. – С. 974–978.
6. Пат. 2038776 Российская Федерация. Средство «Эндоглокин» для профилактики и лечения вирусных заболеваний пчел и стимуляция развития пчелиных семей / Л.Д. Детиненко, В.П. Клименко, В.Ф. Подгорный, Ю.С. Аликин, В.И. Масычева, О.Ф. Гротов, Ю.М. Батуев. – № 93003554/15, заявл. 22.01.1993, опубл. 09.07.1995.
7. Handbook of ELISPOT. Methods and Protocols / Ed. A.E. Kalyuzhny. – Totowa, N. J., USA: Humana Press, 2011. – 329 p.
8. Аликин Ю.С., Сенженко Л.П., Клименко В.П. Развитие технологии получения и перспективы использования эндонуклеазы *Serratia marcescens* // Ферменты микроорганизмов: Сб. докл. XI Всерос. конф. – Казань, 1998. – С. 152–163.
9. Пат. 2420309 Российская Федерация. Препарат против бешенства / А.В. Иванов, Н.А. Хисматуллина, А.Н. Чернов, Р.Х. Юсупов, А.Н. Миронов, А.М. Гулюкин, М.Н. Филимонова. – № 2009130819/15, заявл. 12.08.2009, опубл. 10.06.2011.
10. Пат. 2337139 Российская Федерация. Антимикробный препарат / М.Н. Филимонова, Е.В. Ершова, Ю.И. Сафин, А.А. Тойменцева, Ю.Д. Шабаева, А.Н. Сусарова, А.Р. Валеев, В.С. Угрюмова, А.З. Равилов, И.Г. Каримуллина, А.А. Фаткуллова, А.А. Шишко, М.З. Каримов. – № 2006119841/13, заявл. 06.06.2006, опубл. 27.10.2008, Бюл. № 30. – 7 с.
11. Пат. 2423136 Российская Федерация. Антивирусный препарат контактного действия на основе «Бетадина» и эндонуклеазы / М.Н. Филимонова, И.А. Рассохина, Э.Ф. Зайнутдинова, Л.Ш. Нигматуллина. – № 2009111180/10, заявл. 26.03.2009, опубл. 10.07.2011, Бюл. № 19. – 8 с.
12. Габдулина Г.К. Действие нуклеазы *S. marcescens* на клетки и рост асцитной опухоли Эрлиха: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Казань, 1980. – 20 с.
13. Беляева М.И., Куприянова Ф.Г., Ульянова М.Н. Влияние нуклеазы *Serratia marcescens* на размножение *Candida tropicalis* // Микробиология. – 1977. – Т. 46, Вып. 2. – С. 300–304.
14. Куприянова Ф.Г., Давыдова М.Н., Кузнецова Н.Н., Винтер В.Г. Стимуляция размножения дрожжей *Candida tropicalis* экзогенными нуклеазами // Биол. науки. – 1982. – № 10. – С. 91–94.
15. Reimer K., Schreier H., Erdos G., König B., König W., Fleischer W. Molecular effects of a microbicidal substance on relevant microorganisms: electron microscopic and biochemical studies on povidone-iodine // Zentralbl. Hyg. Umweltmed. – 1998. – V. 200, No 5–6. – P. 423–434.
16. Зайнутдинова Э.Ф., Филимонова М.Н. Анализ действия «Повидон-йода» на бактерии *Serratia marcescens* // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2012. – Т. 154, кн. 4. – С. 151–157.

17. Филимонова М.Н., Дементьев А.А., Лецинская И.Б., Бакулина Г.Ю., Шляпников С.П. Выделение и характеристика изоформ внеклеточной нуклеазы *Serratia marcescens* // Биохимия. – 1991. – Т. 56, Вып. 3. – С. 508–519.
18. Педерсен Ю., Андерсен Ж., Роенсторф П., Филимонова М., Бидерман К. Характеристика изоформ нуклеазы *Serratia marcescens* электроспрей-масс-спектрометрией // Биохимия. – 1995. – Т. 60, Вып. 3. – С. 462–469.
19. 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.
20. Лецинская И.Б., Балабан Н.П., Егорова Г.С., Таняшин В.И., Третьяк Т.М. Получение и характеристика высокоочищенного препарата нуклеазы *Serratia marcescens* // Биохимия. – 1974. – Т. 39, Вып. 1 – С. 116–122.
21. Филимонова М.Н., Баратова Н.П., Воспелникова Н.Д., Желтова А.О., Лецинская И.Б. Эндонуклеаза *Serratia marcescens*. Характеристика фермента // Биохимия. – 1981. – Т. 46, Вып. 9. – С. 1660–1666.
22. Пат. 2211693 Российская Федерация. Препараты для введения противовоспалительных, особенно антисептических веществ и/или веществ, способствующих заживлению ран, в верхние дыхательные пути и/или ухо / В. Флайшер (DE), К. Раймер (DE), А. Крамер (DE). – № 2000132711/14, заявл. 27.05.99, опубл. 10.09.2003. – URL: [http://www.ntpo.com/patents\\_medicine/medicine\\_6/medicine\\_1339.shtml](http://www.ntpo.com/patents_medicine/medicine_6/medicine_1339.shtml), свободный.
23. PVP-IODINE. Povidone Iodine Antiseptic Agent. – Int. Specialty Products, 2004. – URL: <http://online1.ispcorp.com/Brochures/Pharma/pvpiodine.pdf>, свободный.

Поступила в редакцию  
10.09.13

---

**Зайнутдинова Эльмира Фаритовна** – инженер кафедры микробиологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.  
E-mail: [Elechka3@gmail.com](mailto:Elechka3@gmail.com)

**Филимонова Мария Николаевна** – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник кафедры микробиологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.  
E-mail: [Maria.Filimonova@kpfu.ru](mailto:Maria.Filimonova@kpfu.ru)

\* \* \*

## RESEARCH ON THE ACTION OF THE ENDONUCLEASE COMBINED WITH “BETADINE” ON *Saccharomyces cerevisiae* YEAST

*E.F. Zainutdinova, M.N. Filimonova*

### Abstract

It is found that the endonuclease inhibits the growth of the eukaryotic cell culture of *Saccharomyces cerevisiae*, which is especially expressed under the conditions leading to the disintegration of the cell wall. In particular, a 15-minute incubation in the presence of the endonuclease is shown to suppress the culture growth, two times reducing the number of colony-forming units. A 15-second incubation in the presence of initial “Betadine” and “Betadine” diluted 100 times (0.05–5% povidone-iodine) leads to a complete loss of the viability of the culture. A 500–1000-time dilution of “Betadine” (0.005–0.01% povidone-iodine) saves the culture’s viability, which in comparison with the control is reduced by 30–45% after a 3–6-minute incubation. The combined action of diluted “Bethadine” and the nuclease two times enhances the suppression effect on the culture growth.

**Keywords:** *Saccharomyces cerevisiae*, povidone-iodine, endonuclease.



## References

1. Brenda: The comprehensive enzyme informational system. Available at: <http://www.brenda-enzymes.org>.
2. RCSB: Protein Data Bank. Available at: <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>.
3. Protein Data Bank in Europe. Available at: <http://www.ebi.ac.uk/pdbe/>.
4. SCOP: Structural Classification of Proteins. Available at: <http://scop.mrc-lmb.cam.ac.uk/scop/>.
5. Panfilova Z.I., Salganik R.I. Isolation of *Serratia marcescens* mutants superproducers of endonuclease by exposure to nitrosomethylurea in a synchronized culture. *Mikrobiologiya*, 1983, vol. 52, pp. 974–978. (In Russian)
6. Detinenko L.D., Klimenko V.P., Podgornyi V.F., Alikin Yu.S., Masycheva V.I., Grobov O.F., Batuev Yu.M. Endoglyukin drug for prevention and treatment of honey bee viral diseases and stimulation of honey bee colonies. Patent RF, no. 2038776, 1995. (In Russian)
7. Handbook of ELISPOT. Methods and Protocols (Ed. A. Kalyuzhny). Totowa, N. J., USA, Humana Press, 2011. 329 p.
8. Alikin Yu.S., Senzhenko L.P., Klimenko V.P. Development of the production technology and application potential of *Serratia marcescens* endonuclease. *Fermenty mikroorganizmov: Sb. dokl. XI Vseross. konf. [Enzymes of Microorganisms: Proc. XI All-Russian Conf.]*. Kazan, 1998, pp. 152–163. (In Russian)
9. Ivanov A.V., Khismatullina N.A., Chernov A.N., Yusupov R.Kh., Mironov A.N., Gulyukin A.M., Filimonova M.N. A drug against rabies. Patent RF, no. 2420309, 2009. (In Russian)
10. Filimonova M.N., Ershova E.V., Safin Yu.I., Toimentseva A.A., Shabaeva Yu.D., Susarova A.N., Valeev A.R., Ugryumova V.S., Ravilov A.Z., Karimullina I.G., Fatkullova A.A., Shishko A.A., Karimov M.Z. An antimicrobial drug. Patent RF, no. 2337139, 2008. (In Russian)
11. Filimonova M.N., Rassokhina I.A., Zainutdinova E.F., Nigmatullina L.Sh. An antiviral drug of contact action based on "Betadine" and endonuclease. Patent RF, no. 2423136, 2009. (In Russian)
12. Gabdulina G.K. The action of *S. marcescens* nuclease on the cells and growth of Ehrlich ascites tumour. Cand. Biol. Sci. Diss., Kazan, 1980. p. 20. (In Russian)
13. Belyaeva M.I., Kupriyanova F.G., Ulyanov M.N. The influence of *Serratia marcescens* nuclease on the reproduction of *Candida tropicalis*. *Mikrobiologiya*, 1977, vol. 46, no. 2, pp. 300–304. (In Russian)
14. Kupriyanova F.G., Davydova M.A., Kuznetsova N.N., Vinter V.G. Stimulation of the reproduction of *Candida tropicalis* yeast by exogenous nucleases. *Biol. nauki*, 1982, no. 10, pp. 91–95. (In Russian)
15. Reimer K., Schreier H., Erdos G., König B., König W., Fleischer W. Molecular effects of a microbicidal substance on relevant microorganisms: electron microscopic and biochemical studies on povidone-iodine. *Zentralbl. Hyg. Umweltmed*, 1998, vol. 200, no. 5–6, pp. 423–434.
16. Zainutdinova E.F., Filimonova M.N. Analysis of Povidone Iodine action on bacteria *Serratia marcescens*. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennyye Nauki*, 2012, vol. 154, no. 4, pp. 151–157. (In Russian)
17. Filimonova M.N., Dementev A.A., Leshchinskaya I.B., Bakulina G.Yu., Shlyapnikov S.P. Isolation and characteristics of the isoforms of extracellular *Serratia marcescens* nuclease. *Biokhim.*, 1991, vol. 56, no. 3, pp. 508–519. (In Russian)
18. Pedersen J., Andersen G., Roepstorff P., Filimonova M.N., Biedermann K. Characterization of the *Serratia marcescens* nuclease isoforms by electrospray mass spectrometry. *Biokhim.*, 1995, vol. 60, no. 3, pp. 462–469. (In Russian)
19. 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.
20. Leshchinskaya I.B., Balaban N.P., Egorova G.S., Tanyashin V.I., Tretyak T.M. Production and characteristics of a highly purified preparation of *Serratia marcescens* nuclease. *Biokhim.*, 1974, vol. 39, no. 1, pp. 116–122. (In Russian)
21. Filimonova M.N., Baratova N.P., Vospelnikova N.D., Zheltova A.O., Leshchinskaya I.B. *Serratia marcescens* endonuclease. Description of the enzyme. *Biokhim.*, 1981, vol. 46, no. 9, pp. 1660–1665. (In Russian)

22. Kramer A., Reimer K., Fleischer W. Medicines for administration of anti-inflammatory, especially antiseptic agents and/or wound-healing substances in the upper airway and/or the ear . Patent RF, no. 2211693, 2003. Available at: [http://www.ntpo.com/patents\\_medicine/medicine\\_6/medicine\\_1339.shtml](http://www.ntpo.com/patents_medicine/medicine_6/medicine_1339.shtml). (In Russian)
23. PVP-IODINE. Povidone Iodine Antiseptic Agent. Int. Specialty Products, 2004. Available at: <http://online1.ispcorp.com/Brochures/Pharma/pvpiodine.pdf>.

Received  
September 10, 2013

---

**Zainutdinova Elmira Faritovna** – Engineer, Department of Microbiology, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: *Elechka3@gmail.com*

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

E-mail: *Maria.Filimonova@kpfu.ru*