

Галиева Г.М., Филимонова М.Н. Новые биохимические свойства эндонуклеазы *Serratia marcescens* // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2011. – Т. 153, кн. 2. – С. 41–50.

УДК 577.151.3

НОВЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭНДОНУКЛЕАЗЫ *Serratia marcescens*

Г.М. Галиева, М.Н. Филимонова

Аннотация

Показано, что присутствие в среде катионов магния или натрия в концентрации 0.2 М приводит к стабилизации активности изоформы Sm1 эндонуклеазы грамотрицательных бактерий *Serratia marcescens*, которая резко снижается в водной среде в их отсутствии. Установлено, что уровень структурной организации молекул изоформы Sm1 зависит от химического состава и pH окружающей среды, а также концентрации самого фермента. Оценка молекулярной массы белковых составляющих водных растворов изоформы Sm1 гельхроматографией на колонке с сепадексом G-100 показала, что 23 нМ раствор представляет собой смесь белковых агрегатов и димеров, а 0.23 нМ раствор – смесь мономеров и димеров. В присутствии 0.2 М сульфата магния 23 нМ водный раствор изоформы Sm1 представляет собой смесь мономеров и димеров, которые диссоциируют в мономеры в результате краткосрочной инкубации. При оптимальном значении pH 0.23–23 нМ эндонуклеаза в 0.1 М Трис-НСl буфере представляет собой смесь димеров и мономеров с выраженным преобладанием последних.

Ключевые слова: эндонуклеазы *Serratia marcescens*, димеры, мономеры, катионы магния.

Summary

G.M. Galieva, M.N. Filimonova. Novel Biochemical Properties of *Serratia marcescens* Nuclease.

Stabilization of activity of endonuclease (Sm1 isoform) isolated from Gram-negative bacteria *Serratia marcescens* was observed in the presence of 0.2 M magnesium or sodium cations. This activity sharply decreased in water in their absence. Structural organization of Sm1 isoform molecules was found to depend on chemical composition and pH of the solution as well as the enzyme concentration. Molecular mass analysis of protein molecules in water solutions of Sm1 isoform made by Sephadex G-100 chromatography displayed that 23 nM solution contained protein aggregates and dimers, and 0.23 nM solution contained dimers and monomers. In the presence of 0.2 M magnesium sulfate, 23 nM water solution of Sm1 isoform was found to be a mixture of monomers and dimers dissociating to the monomers after a short-term incubation. At the optimal pH, 0.23–23 nM endonuclease dissolved in 0.1 M Tris-HCl buffer consisted of dimers and monomers with a pronounced domination of the latter.

Key words: *Serratia marcescens* endonuclease, dimers, monomers, magnesium cations.

Литература

1. *Biedermann K., Jepsen P.K., Riise E., Svendsen I.* Purification and characterization of a *Serratia marcescens* nuclease produced by *Escherichia coli* // Carlsberg Res. Commun. – 1989. – V. 54. – P. 17–27.
2. *Miller M.D., Tanner J., Alpaugh M., Benedik M.J., Krause K.L.* 2.1 Å structure of *Serratia* endonuclease suggests a mechanism for binding to double-stranded DNA // Nature Struct. Biol. – 1994. – V. 1, No 7. – P. 461–468.
3. *Педерсен Ю., Андерсен Ж., Роенсторф П., Филимонова М.Н., Бидерман К.* Нуклеаза *Serratia marcescens*. Сравнение природной и рекомбинантной нуклеаз с использованием электросpray масс-спектрометрии // Биоорган. химия. – 1995 – Т. 21, Вып. 5. – С. 330–335.
4. *Педерсен Ю., Филимонова М.Н., Роенсторф П., Бидерман К.* Нуклеаза *Serratia marcescens*. Анализ первичных структур путем пептидного картирования в комбинации с плазменно-десорбционной масс-спектрометрией // Биоорган. химия. – 1995 – Т. 21, Вып. 5. – С. 336–344.
5. *Филимонова М.Н., Губская В.П., Нуретдинов И.А., Бенедик М.Дж., Богомольная Л.М., Андреева М.А., Лещинская И.Б.* Изоформы нуклеазы *Serratia marcescens*. Роль ионов Mg^{2+} в механизме гидролиза // Биохимия. – 1997. – Т. 62, Вып. 9. – С. 1148–1154.
6. *Филимонова М.Н., Гарусов А.В., Сметанина Т.А., Андреева М.А., Богомольная Л.М., Лещинская И.Б.* Изоформы нуклеазы *Serratia marcescens*. Сравнительный анализ субстратной специфичности // Биохимия. – 1996. – Т. 61, Вып. 10. – С. 1800–1805.
7. *Лещинская 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.
8. *Филимонова М.Н., Балабан Н.П., Шарипова Ф.Р., Лещинская И.Б.* Получение нуклеазы *Serratia marcescens* в гомогенном состоянии и изучение физико-химических свойств фермента // Биохимия. – 1980. – Т. 45, Вып. 11. – С. 2096–2102.
9. *Филимонова М.Н., Баратов Л.А., Воспельников Н.Д., Желтова А.О., Лещинская И.Б.* Эндонуклеаза *Serratia marcescens*. Характеристика фермента // Биохимия. – 1981. – Т. 46, Вып. 9. – С. 1660–1665.
10. *Филимонова М.Н., Дементьев А.А., Лещинская 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.
11. *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.
12. *Nestle M., Roberts W.J.* An extracellular nuclease from *Serratia marcescens*. Purification and some properties of the enzyme // J. Biol. Chem. – 1969. – V. 244, No 19. – P. 5213–5218.
13. *Филимонова М.Н., Бенедик М.Дж., Уразов Н.Г., Лещинская И.Б.* Полидисперсность нуклеазы *Serratia marcescens* при оптимальном значении pH // Прикл. биохимия и микробиол. – 1999. – Т. 35, Вып. 1. – С. 20–24.
14. *Franke I., Meiss G., Pingoud A.* On the Advantage of Being a Dimer, a Case Study Using the Dimeric *Serratia* Nuclease and the Monomeric Nuclease from *Anabaena* sp. Strain PCC 7120 // J. Biol. Chem. – 1999. – V. 274, No 2. – P. 825–832.
15. *Chen C., Beck B.W., Krause K., Weksberg T.E., Pettitt B.M.* Effects of Dimerization of *Serratia marcescens* Endonuclease on Water Dynamics // Biopolymers. – 2006. – V. 85, No 2. – P. 2–13.

16. *Rudyak S.G., Brenowitz M., Shrader T.E.* Mg²⁺-linked oligomerization modulates the catalytic activity of the Lon (La) protease from *Mycobacterium smegmatis* // *Biochemistry*. – 2001. – V. 40, No 31. – P. 9317–9323.
17. *Edmonds L., Liu A., Kwan J.J., Avanesssy A., Caracoglia M., Yang I., Maxwell K.L., Rubenstein J., Davidson A.R., Donaldson L.W.* The NMR structure of the gpU tail-terminator protein from bacteriophage lambda: identification of sites contributing to Mg(II)-mediated oligomerization and biological function // *J. Mol. Biol.* – 2007. – V. 365, No 1. – P. 175–186.
18. *Детерман Г.* Гель-хроматография. – М.: Мир, 1970. – 252 с.

Поступила в редакцию
01.07.10

Галиева Гульназ Мунировна – магистр биологического факультета Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: *Motulek_88@mail.ru*

Филимонова Мария Николаевна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник НИЛ биосинтеза и биоинженерии ферментов Казанского (Приволжского) федерального университета.

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