

УДК 579.22+616-006.66+577.2

РИБОНУКЛЕОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ НОРМАЛЬНОГО И МАЛИГНИЗИРОВАННОГО ЭПИТЕЛИЯ ПРЯМОЙ КИШКИ

Нга Тхи Нгуен, П.В. Зеленихин, И.Г. Гатауллин, О.Н. Ильинская

Аннотация

В последние десятилетия происходит увеличение частоты возникновения колоректального рака. Среди прочих причин исследователи отмечают, что в развитие злокачественных новообразований данного типа вовлечена микрофлора эпителия кишечника. Представляет интерес характеристика физиолого-биохимических особенностей представителей бактериальной микрофлоры, ассоциированной со злокачественными новообразованиями прямой кишки. В настоящем исследовании проведен анализ взаимосвязи малигнизации эпителия прямой кишки и рибонуклеолитической активности представителей колонизирующей его микрофлоры. Установлено, что культивируемые изоляты бактерий, выделенные с малигнизированного эпителия, обладают значительно более высокой РНКазной активностью, чем микрофлора неповрежденного эпителия прямой кишки.

Ключевые слова: колоректальный рак, микрофлора, РНКазная активность.

Введение

По данным Всемирной организации здравоохранения, колоректальный рак (КРР, рак эпителия прямой кишки) вышел на четвертое место по значимости среди причин смертей от рака; он ответственен примерно за 610 тыс. смертей ежегодно во всем мире [1]. Установлено, что КРР имеет связь с определенными наследственными мутациями генов, но только 3–5% случаев объясняются исключительно этим. Специфические соматические мутации онкогенов и генов-супрессоров опухолей связаны с превращением аденоматозного поражения (полипа) в инвазивный рак. Курение, высокий уровень потребления алкоголя, низкий уровень потребления овощей, ожирение и отсутствие физической активности повышают риск развития КРР. Использование постклимактерического гормона, нестероидных воспалительных лекарств и высокое потребление кальция уменьшают риск возникновения этого заболевания [2]. Воспаление является известным фактором риска возникновения КРР [3–5], в связи с чем роль микроорганизмов кишечника в патогенезе КРР весьма значительна. Последние данные свидетельствуют о том, что в кишечном тракте человека содержится около 10^{14} бактерий порядка 1000 различных видов, важных для переваривания пищи, контроля кишечного эпителиального гомеостаза и здоровья человека [6, 7].

Ряд исследований, в том числе клинических, был направлен на выявление микроорганизмов, вовлеченных в развитие КРР. Удалось выделить бактерии, потенциально причастные к развитию заболевания: *Streptococcus bovis/galloyticus*,

Clostridium septicum [8], *Helicobacter pylori* [9, 10], *Klebsiella pneumonia* [11] и *Fusobacterium* [1, 12].

В настоящей работе проведен сравнительный анализ микрофлоры нормального и пораженного опухолями эпителия кишечника пациентов, подвергшихся операционной элиминации карциномы прямой кишки, для выявления наиболее значимых различий в составе, количестве и некоторых биохимических свойствах микрофлоры кишечника. Особое внимание было уделено активности секретируемых рибонуклеаз бактерий, поскольку известно, что РНКазы обладают противоопухолевым эффектом [13].

1. Материалы и методы исследования

Были проанализированы биоптаты слизистой прямой кишки 18 пациентов, подвергнутых оперативному рассечению кишки. У всех 18 был подтвержден диагноз – рак прямой кишки. Образцы были отобраны как непосредственно из зоны онкотрансформации, так и из соседних участков выше опухоли с неозлокачественным эпителием. Биоптаты были получены и исследованы в соответствии с разрешением Этического комитета Казанской государственной медицинской академии (протокол № 4 от 7 мая 2009 г.), предоставленным нам на основании сотрудничества с оперирующим хирургом профессором И.Г. Гатауллиным и врачом-колопроктологом П.В. Мальцевым.

Анализ микрофлоры биоптатов проводили методами классической микробиологии, осуществляя посев на МПА и среду Эндо, микрокопируя образцы для морфологической характеристики бактерий, окрашивая культуры логарифмической фазы роста по Граму и посчитывая число колоний на твердой питательной среде. Биоптат со средними размерами $5-7 \times 5-7$ мм интенсивно промывали 5 мл PBS (фирма Sigma, США), на чашки Петри высевали 20 мкл полученной суспензии.

Оценка РНКазной активности бактерий проведена с использованием высокополимерной РНК в качестве субстрата на плотной бесфосфорной среде (6.05 г основной ТРИС; 5 г KCl; 1 г NaCl; 2 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 1 г $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$; 0.2 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0.5 г дрожжевой экстракт; 6.25 г глюкозы) согласно классической методике [14] через 8 и 24 ч культивирования при 37 °С. Об активности секретируемых РНКаз судили по зоне просветления среды вокруг отдельной колонии испытуемых микроорганизмов (рис. 1). Активность внутриклеточных РНКаз оценивали по рибонуклеазной активности клеточных лизатов. Для получения лизатов бактериальные клетки через 18 ч культивирования дважды отмывали стерильным PBS, ресуспендировали до плотности 10^7 кл/мл и разрушали на льду с помощью ультразвука (УЗДИ-IV 4.2) при частоте 22 кГц (15 раз по 30 с). 50 мкл полученного лизата вносили в лунку на поверхности агаризованной бесфосфорной среды и через 2 ч инкубирования при 37 °С детектировали наличие зон просветления.

Статистическая обработка результатов, полученных из трехкратных повторностей каждого эксперимента, проводилась стандартными методами в программе Microsoft Excel 2007.

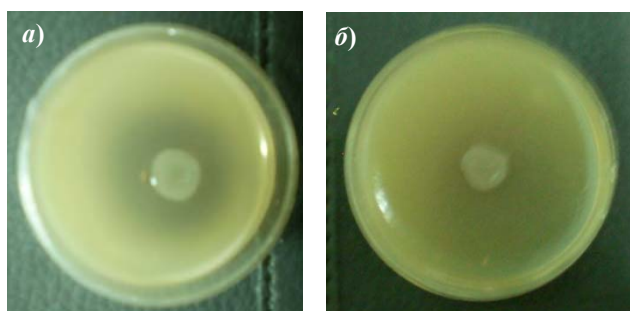


Рис. 1. Сравнительная оценка активности секретируемых РНКаз: образец бактерий малигнизированного эпителия (а) и условно здорового эпителия (б). 8 ч культивирования

Табл. 1

Грампринадлежность бактерий, выделенных с биоптатов эпителия прямой кишки

Тип эпителия	Грампринадлежность бактерий, %*	
	Положительные	Отрицательные
Условно здоровый	20.8 ± 2	79.2 ± 2
Малигнизированный	13.3 ± 0.9	86.7 ± 0.9

* За 100% принято общее количество морфологически различающихся изолятов, выделенных с определенного типа эпителия.

2. Результаты и их обсуждение

Из биоптатов нормального и онкотрансформированного эпителия прямой кишки были выделены 68 культивируемых изолятов микроорганизмов. Анализ микрофлоры биоптатов эпителия онкологических больных позволил выделить доминирующие группы бактерий, характерные для области карциномы и прилежащей к ней зоны неповрежденного эпителия. Нами не выявлено достоверного различия в общем количестве культивируемых бактерий между образцами трансформированного и нормального эпителия. В среднем на 1 мл суспензии, полученной при промывке биоптата, высевалось от 10^3 до 10^5 микроорганизмов. Таким образом, количественные показатели присущей эпителию кишечника микрофлоры невысоки, что связано с предоперационным очищением кишечника пациентов, а также с тем, что большинство пациентов до операции подвергались лучевой терапии. Установлено, что для малигнизированного эпителия характерна повышенная доля грамотрицательных микроорганизмов по сравнению с нормальным эпителием (табл. 1).

Ранее у больных КРР были установлены дисбиотические изменения микрофлоры кишечника: у 82.7% больных выявлено снижение численности бифидобактерий, у 71.1% – лактобактерий, у 48% – энтерококков, у 50% больных – эшерихий с нормальной ферментацией [15]. Таким образом, зафиксировано изменение состава микробного сообщества прямой кишки при злокачественной трансформации ее эпителия. С другой стороны, можно предположить, что бактерии трансформированного эпителия обладают особенными физиолого-биохимическими свойствами, отличными от нормофлоры. Известно, что секретируемые микробные РНКазы не только обеспечивают клетки-хозяина доступным источником фосфора в условиях фосфатного голодания [16], который образуется при разложении РНК нежизнеспособных клеток, но и могут служить оружием

Табл. 2

Доля микроорганизмов эпителия прямой кишки, обладающих секретрируемой РНКазной активностью

Время культивирования бактерий на синтетической бесфосфорной среде, ч	Доля бактерий с секретрируемыми РНКазами, %*			
	8		24	
Грампринадлежность	Положительные	Отрицательные	Положительные	Отрицательные
Тип эпителия				
Условно здоровый	33	26	83	91
Малигнизированный	75	85	100	100

* За 100% принято количество изолятов определенной грампринадлежности, выделенных с условно здорового либо малигнизированного эпителия.

в конкурентной борьбе с другими микроорганизмами за экологическую нишу. Клетка содержит около 20 видов экзо- и эндорибонуклеаз, которые могут входить в состав надмолекулярных комплексов и проявлять высокую специфичность к определенным нуклеотидным последовательностям и структурам [17]. Различия в РНКазной активности кишечных бактерий могут отражать особенность колонизированной ими ниши. Нами выявлено, что уровень рибонуклеазной активности микрофлоры зависел от степени онкологического поражения колонизированного эпителия (табл. 2). Необходимо отметить, что повышенная РНКазная активность была характерна как для грамотрицательной, так и для грамположительной микрофлоры малигнизированного эпителия. После 8 ч культивирования на синтетической бесфосфорной среде с добавлением РНК 84% изолятов, выделенных с поврежденного эпителия, и лишь 28% изолятов с условно здорового эпителия проявляли значимую внеклеточную рибонуклеазную активность, тогда как большинство бактерий (90%) со здорового эпителия проявляли сходный уровень активности только после 24 ч культивирования. Более того, 10% изолятов со здорового эпителия вообще не проявляли внеклеточную РНКазную активность. Внутриклеточную РНКазную активность проявили все исследуемые штаммы, при этом в среднем микрофлора малигнизированного эпителия по сравнению с микрофлорой неповрежденного эпителия имела более высокий уровень РНКазной активности, определяемой по ширине зон просветления вокруг точки внесения клеточного лизата.

Таким образом, нами впервые установлен более высокий уровень активности РНКаз бактерий, выделенных с малигнизированного эпителия прямой кишки. С одной стороны, принято рассматривать этиологическую связь микрофлоры с развитием рака с учетом условно «хороших» и «плохих» микроорганизмов, соответственно принадлежащих к группам молочнокислых и гнилостных бактерий [18]. С другой стороны, активация синтеза внеклеточных РНКаз, которые индуцируют апоптоз опухолевых клеток [19], в группе бактерий, колонизирующих поврежденную ткань кишечника, может быть оценена как возможный механизм борьбы нормофлоры организма с опухолеобразованием и сохранением ее естественной среды обитания. Более активная продукция секретрируемых РНКаз в группе бактерий с малигнизированного эпителия свидетельствует о том,

что бактерии-комменсалы независимо от их родовой принадлежности вносят вклад в элиминацию трансформированных клеток путем выделения в среду противопухолевых агентов – РНКаз.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 12-04-31022 мол_а, 12-04-01226 а) и ГК ФЦП (соглашение № 8048).

Литература

1. *Castellarin M., Warren R.L., Freeman J.D., Dreolini L., Krzywinski M., Strauss J., Barnes R., Watson P., Allen-Vercoe E., Moore R.A., Holt R.A.* *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma // *Genome Res.* – 2012. – V. 22, No 2. – P. 299–306. – doi: 10.1101/gr.126516.111.
2. *Burnett-Hartman A.N., Newcomb P.A., Potter J.D.* Infectious agents and colorectal cancer: a review of *Helicobacter pylori*, *Streptococcus bovis*, JC virus, and human papillomavirus // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 2008. – V. 17, No 11. – P. 2970–2979. – doi: 10.1158/1055-9965.EPI-08-0571.
3. *Wu S., Rhee K.J., Albesiano E., Rabizadeh S., Wu X., Yen H.R., Huso D.L., Brancati F.L., Wick E., McAllister F., Housseau F., Pardoll D.M., Sears C.L.* A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses // *Nat. Med.* – 2009. – V. 15, No 9. – P. 1016–1022. – doi: 10.1038/nm.2015.
4. *McLean M.H., Murray G.I., Stewart K.N., Norrie G., Mayer C., Hold G.L., Thomson J., Fyfe N., Hope M., Mowat N.A., Drew J.E., El-Omar E.M.* The inflammatory microenvironment in colorectal neoplasia // *PLoS ONE.* – 2011. – V. 6, No 1. – P. e15366-1–e15366-8. – doi: 10.1371/journal.pone.0015366.
5. *Schwabe R.F., Wang T.C.* Bacteria deliver a genotoxic hit // *Science.* – 2012. – V. 338. – P. 52–53. – doi: 10.1126/science.1229905.
6. *Hooper L.V., Gordon J.I.* Commensal host-bacterial relationships in the gut // *Science.* – 2001. – V. 292. – P. 1115–1118. – doi: 10.1126/science.1058709.
7. *Arthur J.C., Jobin C.* The struggle within: microbial influences on colorectal cancer // *Inflamm. Bowel Dis.* – 2011. – V. 17, No 1. – P. 396–409. – doi: 10.1002/ibd.21354.
8. *Marchesi J.R., Dutilh B.E., Hall N., Peters W.H.M., Roelofs R., Boleij A., Tjalsma H.* Towards the human colorectal cancer microbiome // *PLoS ONE.* – 2011. – V. 6, No 5. – P. e20447-1–e20447-8. – doi: 10.1371/journal.pone.0020447.
9. *Strofilas A., Lagoudianakis E.E., Seretis C., Pappas A., Koronakis N., Keramidaris D., Koukoutsis I., Chrysikos I., Manouras I., Manouras A.* Association of helicobacter pylori infection and colon cancer // *J. Clin. Med. Res.* – 2012. – V. 4, No 3. – P. 172–176. – doi: 10.4021/jocmr880w.
10. *Shmueli H., Passaro D., Figer A., Niv Y., Pitlik S., Samra Z., Koren R., Yahav J.* Relationship between *Helicobacter pylori* CagA status and colorectal cancer // *Am. J. Gastroenterol.* – 2001. – V. 96, No 12. – P. 3406–3410.
11. *Huang W.K., Chang J.W., See L.C., Tu H.T., Chen J.S., Liaw C.C., Lin Y.C., Yang T.S.* Higher rate of colorectal cancer among patients with pyogenic liver abscess with *Klebsiella pneumoniae* than those without: an 11-year follow-up study // *Colorectal Dis.* – 2012. – V. 14, No 12. – P. e794–e801. – doi: 10.1111/j.1463-1318.2012.03174.x.
12. *Kostic A.D., Gevers D., Pedamallu C.S., Michaud M., Duke F., Earl A.M., Ojesina A.I., Jung J., Bass A.J., Taberero J., Baselga J., Liu C., Shivdasani R.A., Ogino S., Birren B.W., Huttenhower C., Garrett W.S., Meyerson M.* Genomic analysis identifies association of *Fusobacterium* with colorectal carcinoma // *Genome Res.* – 2012. – V. 22, No 2. – P. 292–298. – doi: 10.1101/gr.126573.111.

13. *Makarov A.A., Ilinskaya O.N.* Cytotoxic ribonucleases: molecular weapons and their targets // *FEBS Lett.* – 2003. – V. 540, No 1–3. – P. 15–20.
14. *Jeffries C.D., Holtman D.F., Guse D.G.* Rapid method for determining the activity of microorganisms on nucleic acids // *J. Bacteriol.* – 1957. – V. 73, No 4. – P. 590–591.
15. *Старостина М.А., Афанасьева З.А., Губаева М.С., Ибрагимова Н.Р., Сакмарова Л.И.* Биоценоз кишечника у больных колоректальным раком // *Практ. мед.* – 2012. – № 6 (61). – С. 97–99.
16. *Rittmann D., Sorger-Herrmann U. Wendisch V.F.* Phosphate starvation-inducible gene *ushA* encodes a 5' nucleotidase required for growth of *Corynebacterium glutamicum* on media with nucleotides as the phosphorus source // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2005. – V. 71, No 8. – P. 4339–4344.
17. *Deutscher M.P., Li Z.* Exoribonucleases and their multiple roles in RNA metabolism // *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* – 2001. – V. 66. – P. 67–105.
18. *Antonic V., Stojadinovic A., Kester K.E., Weina P.J., Brücher B.L., Protic M., Avital I., Izadjoo M.* Significance of infectious agents in colorectal cancer development // *J. Cancer.* – 2013. – V. 4, No 3. – P. 227–240. – doi: 10.7150/jca.5835.
19. *Ilinskaya O.N., Koschinski A., Repp H., Mitkevich V.A., Dreyer F., Scholtz M., Pace C.N., Makarov A.A.* RNase-induced apoptosis: fate of calcium-activated potassium channels // *Biochimie.* – 2008. – V. 90, No 5. – P. 717–725. – doi: 10.1016/j.biochi.2008.01.010.

Поступила в редакцию
13.05.13

Нгуен Тхи Нга – аспирант кафедры микробиологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

E-mail: nn7189@gmail.com

Зеленихин Павел Валерьевич – кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

E-mail: pasha_mic@mail.ru

Гатауллин Ильгиз Габдуллович – доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии и хирургии, Казанская государственная медицинская академия, г. Казань, Россия.

E-mail: ilgizg@list.ru

Ильинская Ольга Николаевна – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

E-mail: Olga.Ilinskaya@kpfu.ru

* * *

RIBONUCLEOLYTIC ACTIVITY OF MICROFLORA FROM NORMAL AND MALIGNANT COLORECTAL EPITHELIUM

Nga Thi Nguyen, P.V. Zelenikhin, I.G. Gataullin, O.N. Ilinskaya

Abstract

In recent decades the incidence of colorectal cancer has increased. Researchers note that microflora of intestinal epithelium is involved in the development of colorectal malignant tumors. It is interesting to determine the physiological and biochemical characteristics of certain bacteria associated with colorectal cancer. This paper analyzes the relationships between RNase activity of microflora from colorectal epithelium

and malignization. It was found that cultured bacterial strains isolated from malignant epithelium possess an increased level of RNase activity compared with microflora of normal tissue.

Keywords: colorectal carcinoma, microflora, RNase.

References

1. Castellarin M., Warren R.L., Freeman J.D., Dreolini L., Krzywinski M., Strauss J., Barnes R., Watson P., Allen-Vercoe E., Moore R.A., Holt R.A. *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genome Res.*, 2012, vol. 22, no. 2, pp. 299–306. doi: 10.1101/gr.126516.111.
2. Burnett-Hartman A.N., Newcomb P.A., Potter J.D. Infectious agents and colorectal cancer: a review of *Helicobacter pylori*, *Streptococcus bovis*, JC virus, and human papillomavirus. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2008, vol. 17, no. 11, pp. 2970–2979. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-08-0571.
3. Wu S., Rhee K.J., Albesiano E., Rabizadeh S., Wu X., Yen H.R., Huso D.L., Brancati F.L., Wick E., McAllister F., Housseau F., Pardoll D.M., Sears C.L. A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses. *Nat. Med.*, 2009, vol. 15, no. 9, pp. 1016–1022. doi: 10.1038/nm.2015.
4. McLean M.H., Murray G.I., Stewart K.N., Norrie G., Mayer C., Hold G.L., Thomson J., Fyfe N., Hope M., Mowat N.A., Drew J.E., El-Omar E.M. The inflammatory microenvironment in colorectal neoplasia. *PLoS ONE*, 2011, vol. 6, no. 1, pp. e15366-1–e15366-8. doi: 10.1371/journal.pone.0015366.
5. Schwabe R.F., Wang T.C. Bacteria deliver a genotoxic hit. *Science*, 2012, vol. 338, pp. 52–53. doi: 10.1126/science.1229905.
6. Hooper L.V., Gordon J.I. Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science*, 2001, vol. 292, pp. 1115–1118. doi: 10.1126/science.1058709.
7. Arthur J.C., Jobin C. The struggle within: microbial influences on colorectal cancer. *Inflamm. Bowel Dis.*, 2011, vol. 17, no. 1, pp. 396–409. doi: 10.1002/ibd.21354.
8. Marchesi J.R., Dutilh B.E., Hall N., Peters W.H.M., Roelofs R., Boleij A., Tjalsma H. Towards the human colorectal cancer microbiome. *PLoS ONE*, 2011, vol. 6, no. 5, pp. e20447-1–e20447-8. doi: 10.1371/journal.pone.0020447.
9. Stofilas A., Lagoudianakis E.E., Seretis C., Pappas A., Koronakis N., Keramidaris D., Koukoutsis I., Chrysikos I., Manouras I., Manouras A. Association of helicobacter pylori infection and colon cancer. *J. Clin. Med. Res.*, 2012, vol. 4, no. 3, pp. 172–176. doi: 10.4021/jocmr880w.
10. Shmueli H., Passaro D., Figer A., Niv Y., Pitlik S., Samra Z., Koren R., Yahav J. Relationship between *Helicobacter pylori* CagA status and colorectal cancer. *Am. J. Gastroenterol.*, 2001, vol. 96, no. 12, pp. 3406–3410.
11. Huang W.K., Chang J.W., See L.C., Tu H.T., Chen J.S., Liaw C.C., Lin Y.C., Yang T.S. Higher rate of colorectal cancer among patients with pyogenic liver abscess with *Klebsiella pneumoniae* than those without: an 11-year follow-up study. *Colorectal Dis.*, 2012, vol. 14, no. 12, pp. e794–e801. doi: 10.1111/j.1463-1318.2012.03174.x.
12. Kostic A.D., Gevers D., Pedamallu C.S., Michaud M., Duke F., Earl A.M., Ojesina A.I., Jung J., Bass A.J., Tabernero J., Baselga J., Liu C., Shivdasani R.A., Ogino S., Birren B.W., Huttenhower C., Garrett W.S., Meyerson M. Genomic analysis identifies association of *Fusobacterium* with colorectal carcinoma. *Genome Res.*, 2012, vol. 22, no. 2, pp. 292–298. doi: 10.1101/gr.126573.111.
13. Makarov A.A., Ilinskaya O.N. Cytotoxic ribonucleases: molecular weapons and their targets. *FEBS Lett.*, 2003, vol. 540, nos. 1–3, pp. 15–20.
14. Jeffries C.D., Holtman D.F., Guse D.G. Rapid method for determining the activity of microorganisms on nucleic acids. *J. Bacteriol.*, 1957, vol. 73, no. 4, pp. 590–591.
15. Starostina M.A., Afanaseva Z.A., Gubaeva M.S., Ibragimova N.R., Sakmarova L.I. Intestinal Biocenosis in colorectal cancer patients. *Prakticheskaya meditsina*, 2012, no. 6 (61), pp. 97–99. (In Russian)
16. Rittmann D., Sorger-Herrmann U., Wendisch V.F. Phosphate starvation-inducible gene *ushA* encodes a 5' nucleotidase required for growth of *Corynebacterium glutamicum* on media with nucleotides as the phosphorus source. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2005, vol. 71, no. 8, pp. 4339–4344.
17. Deutscher M.P., Li Z. Exoribonucleases and their multiple roles in RNA metabolism. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, 2001, vol. 66, pp. 67–105.

18. Antonic V., Stojadinovic A., Kester K.E., Weina P.J., Brücher B.L., Protic M., Avital I., Izadjoo M. Significance of infectious agents in colorectal cancer development. *J. Cancer*, 2013, vol. 4, no. 3, pp. 227–240. doi: 10.7150/jca.5835.
19. Ilinskaya O.N., Koschinski A., Repp H., Mitkevich V.A., Dreyer F., Scholtz M., Pace C.N., Makarov A.A. RNase-induced apoptosis: fate of calcium-activated potassium channels. *Biochimie*, 2008, vol. 90, no. 5, pp. 717–725. doi: 10.1016/j.biochi.2008.01.010.

Received
May 13, 2013

Nguyen Thi Nga – PhD Student, Department of Microbiology, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: *nn7189@gmail.com*

Zelenikhin Pavel Valerevich – PhD in Biology, Associated Professor, Department of Microbiology, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: *pasha_mic@mail.ru*

Gataullin Ilgiz Gabdullovich – Doctor of Medicine, Professor, Department of Oncology and Surgery, Kazan State Medical Academy, Kazan, Russia.

E-mail: *ilgizg@list.ru*

Ilinskaya Olga Nikolaevna – Doctor of Biology, Professor, Department of Microbiology, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: *Olga.Ilinskaya@kpfu.ru*