

**СРАВНЕНИЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ
КОММЕРЧЕСКИХ ДНК-ПОЛИМЕРАЗ**© **О. И. Машков***, **Р. Р. Гарафутдинов**Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН
Россия, Республика Башкортостан, 450054 г. Уфа, пр. Октября, 71.

Тел.: +7 (347) 235-60-88.

*Email: mashkov.sci@gmail.com

В настоящее время одним из главных методов молекулярной биологии и генетики является амплификация нуклеиновых кислот, которую осуществляют с помощью ДНК-полимераз. Коммерчески доступны ДНК-полимеразы с различными свойствами, обусловленными их происхождением и структурой. Понимание влияния аминокислотной последовательности на специфическую активность фермента способствует отбору полимераз с искомыми качествами. В данной работе проведено сравнение 18 ДНК-полимераз представителей надцарств Бактерии, Археи и Вирусы. Их аминокислотные последовательности формируют на филогенетическом древе три четких ветви. Сравнение полимеразных доменов внутри надцарства Бактерии показало консервативность полимеразного домена, особенно в районах, прилегающих к активному центру. Выявленные особенности первичной структуры могут способствовать лучшему пониманию особенностей характера амплификации нуклеиновых кислот при использовании бактериальных ДНК-полимераз.

Ключевые слова: ДНК-полимераза, аминокислотная последовательность, амплификация нуклеиновых кислот, полимеразный домен, активный сайт.

Введение

Амплификация нуклеиновых кислот *in vitro* является одним из главных методов молекулярно-биологических и генетических исследований, который требует использования специальных ферментов – ДНК-полимераз. На сегодняшний день коммерчески доступны ДНК-полимеразы с различными свойствами, обусловленными их происхождением и структурой. Как правило, для амплификации нуклеиновых кислот *in vitro* применяются ДНК-полимеразы бактериального или вирусного происхождения [1–2].

Среди бактериальных организмов-источников ДНК-полимераз можно выделить четыре рода – *Escherichia*, *Thermus*, *Bacillus* и *Geobacillus*. Одной из первых охарактеризованных полимераз стал большой фрагмент полимеразы *Escherichia coli* (фрагмент Кленова) [3], однако низкий температурный оптимум активности ограничивает ее использование. Первым термостабильным ферментом стала Таq-полимераза [4], открытие которой способствовало развитию метода полимеразной цепной реакции. Таq-полимераза является основным ферментом амплификации ДНК. Обладающая сходными с Таq-полимеразой характеристиками Tth-полимераза из *Thermus thermophilus* сохраняет активность при более высоких концентрациях различных ингибиторов [5], что позволяет использовать ее при амплификации ДНК из сложных объектов. ДНК-полимеразы родов *Bacillus* и *Geobacillus* (Bsm-полимераза из *Bacillus smithii*, Bsu-полимераза из *Bacillus subtilis*, Bst-полимераза из *Geobacillus stearothermophilus*) обладают меньшей

устойчивостью к высоким температурам, чем полимеразы архей или рода *Thermus*. Однако оптимум их активности (60–65°C) достаточен для отжига праймеров, а отсутствие экзонуклеазной и наличие цепь-смещающей активности обеспечивает эффективную амплификацию по типу катящегося кольца [6–10]. Недавно была охарактеризована Gss-полимераза и ее химерные формы с повышенной устойчивостью к ингибиторам [11–12].

Наиболее применяемыми ДНК-полимеразами из архей являются Pfu-полимераза из *Pyrococcus furiosus* [13], Deep Vent полимеразы из *Pyrococcus sp.* (штамм GB-D), используемая для амплификации GC-богатых последовательностей [14], и Pwo-полимераза из *Pyrococcus woesei* [15]. Большой интерес представляют гипертермофильные археи рода *Thermococcus*, поскольку живут при температурах выше 80°C. Коммерчески доступны Tli-полимераза (также известная как Vent) из *Thermococcus litoralis* [16], Tgo-полимераза из *Thermococcus gorgonarius* [17], Tfu-полимераза из *Thermococcus fumicolans*, 9°nM-полимераза из *Thermococcus sp.* 9°nM [18]. Для амплификации поврежденной ДНК рекомендуют использовать полимеразу из *Sulfolobus islandicus* [19].

В последние годы все более активно используются ДНК-полимеразы вирусного происхождения, например ДНК-полимераза бактериофага phi29, способная синтезировать ДНК длиной свыше 70 т.п.н. Возможность амплифицировать протяженные участки делает phi29 одним из самых востребованных ферментов для полногеномной амплификации [20]. Димерная ДНК-полимераза фага T7 имеет, помимо полимеразной, еще и 3'-5'-

эксонуклеазную активность [21]. Включение в состав Taq-полимеразы тиоредоксин-связывающего домена ДНК-полимеразы фага T3 повысило процессивность фермента в 20–50 раз [22].

Понимание влияния аминокислотной последовательности на специфическую активность фермента способствует отбору полимераз с искомыми качествами. Целью данной работы стал анализ первичной структуры наиболее используемых ДНК-полимераз.

Экспериментальная часть

В работе использовались аминокислотные последовательности ДНК-полимераз (табл. 1) из баз данных NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/>) и RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>) [23]. В качестве инструмента анализа использовали метод выравнивания аминокислотных последовательностей Geneious Alignment программы Geneious 7.1.3.

Таблица 1

Использованные для анализа ДНК-полимеразы

Источник	Организм	Полимераза (коммерческое название)	Семейство	Идентификатор	Длина
Бактерии	<i>Escherichia coli</i>	Klenow	A	PDB: 2KZZ	605
	<i>Bacillus smithii</i>	Bsm	A	AKP48079.1	381
	<i>Bacillus subtilis</i>	Bsu	A	NP_390787.1	880
	<i>Geobacillus sp. 777</i>	Gss	A	AKQ09535.1	591
	<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	Bst	A	PDB: 2HVI	580
	<i>Thermus aquaticus</i>	Klen-Taq	A	PDB: 3SV4	540
	<i>Thermus thermophilus</i>	Tth	A	ACH89345.1	834
Архей	<i>Pyrococcus woesei</i>	Pwo	B	AAB67984.1	775
	<i>Pyrococcus furiosus</i>	Pfu	B	BAA02362.1	775
	<i>Pyrococcus sp. (GB-D)</i>	Deep Vent	B	PDB: 5H12	775
	<i>Thermococcus sp. 9^onM</i>	9 ^o nM	A	PDB: 4K8X	775
	<i>Thermococcus gorgonarius</i>	Tgo	B	DD181431.1	773
	<i>Thermococcus litoralis</i>	Tli	B	ADK47977.1	774
	<i>Thermococcus fumicolans</i>	Tfu	B	CAA93738.1	1523
<i>Sulfolobus islandicus</i>	Sis	Y	PDB: 3M1M	335	
Вирусы	<i>Escherichia virus T3</i>	T3	A	AGM10723	704
	<i>Escherichia virus T7</i>	T7	A	PDB: 1T7P	698
	<i>Bacillus virus phi29</i>	phi29	B	PDB: 2PY5	575

Результаты и обсуждение

Постоянно увеличивающийся ассортимент ферментов нуклеинового обмена заставляет исследователей критично подходить к выбору экспериментальной стратегии. Первичная структура любого фермента является основой его специфической активности. С целью выявления сходств и/или различий в первичной структуре было проведено сравнение аминокислотных последовательностей 18 ДНК-полимераз: бактериального происхождения – фрагмент Кленова полимеразы *E.coli*, родов *Bacillus* (*B.smithii*, *B.subtilis*), *Geobacillus* (*Geobacillus sp. 777*, *G.stearothermophilus*), *Thermus* (*T.aquaticus* (фрагмент Кленова), *T.thermophilus*); из архей – родов *Pyrococcus* (*P.woesei*, *P.furiosus*, *Pyrococcus sp.* (штамм GB-D)), *Thermococcus* (*Thermococcus sp. 9°nM*, *T.gorgonarius*, *T.litoralis*, *T.fumicolans*) и ДНК-полимераза *Sulfolobus islandicus*; бактериофагов – T3, T7 и phi29. Указанные микроорганизмы относятся к трем надцарствам – Бактерии, Археи и Вирусы. Поскольку аминокислотные последовательности ферментов представителей разных надцарств отличаются значительно, выравнивание осуществлялось в два этапа. На первом проводили сравнение ферментов всех организмов, а затем между полученными кластерами осуществляли групповое выравнивание.

Исследуемые полимеразы формируют три группы в соответствии с принадлежностью организма-источника к определенному надцарству. Для каждого надцарства, за исключением мелких отличий, можно выявить особый паттерн сходства с референсной последовательностью Кленовского фрагмента полимеразы *E.coli*. Так, последовательности полимераз архей (кроме *S.islandicus*) имеют большее сходство с 3'-5'-экзонуклеазным, чем с полимеразным доменом фрагмента Кленова. Более того, из полимераз восьми представителей надцарства архей только у двух видов (*T.fumicolans* и *S.islandicus*) наблюдается хотя бы минимальное подобие последовательности полимеразного домена фрагмента Кленова. По сравнению с бактериальными полимеразами, аминокислотные последовательности вирусных полимераз имеют меньше сходных мотивов. Однако участки гомологии распределены равномерно по всей длине первичной последовательности фрагмента Кленова полимеразы *E.coli*.

На основе выравнивания полных последовательностей полимераз представителей трех надцарств было построено филогенетическое древо, отражающее степень отличия сравниваемых ферментов (рис. 1).

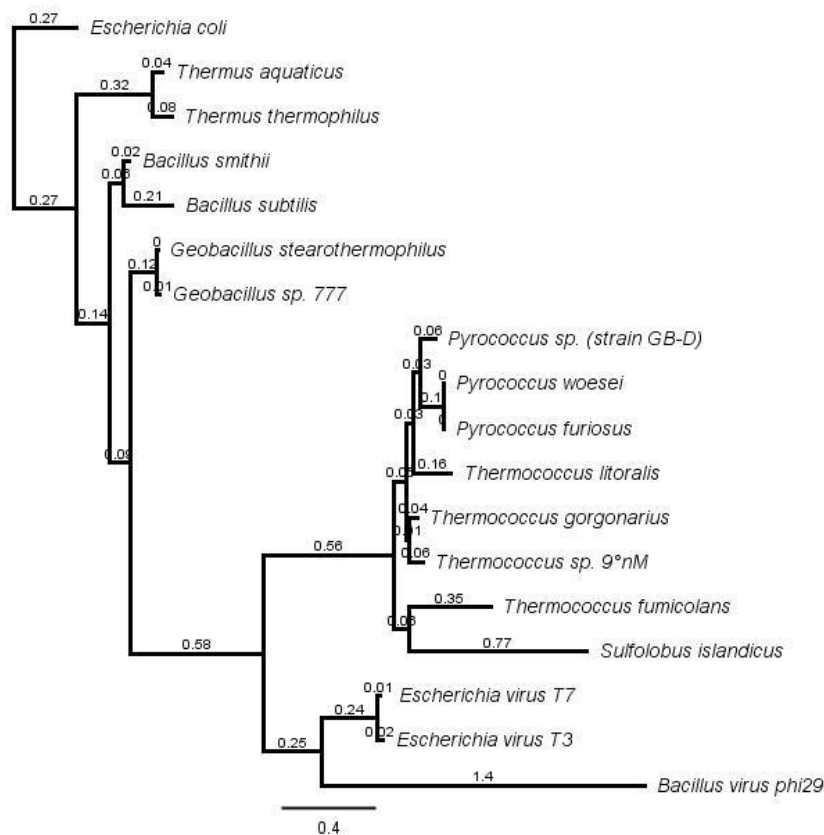


Рис. 1. Филогенетическое древо ДНК-полимераз относительно фрагмента Кленова (длина ветви определена в единицах замещений на сайт выравнивания).

Анализ выравнивания показывает, что длина ветвей между надцарствами составляет: археи и вирусы 0.81 замен на каждый сайт выравнивания; бактерии и вирусы – 0.83; археи и бактерии – 1.14. При анализе показателей аминокислотных замещений выявлено, что в среднем внутри надцарства архей полимеразы отличаются на 0.49 ± 0.36 , внутри надцарства бактерий – на 0.63 ± 0.29 , внутри надцарства вирусов – на 1.11 ± 0.93 . В то же время последовательности ДНК-полимераз *phi29* и *S.islandicus* отличаются от других представителей своего надцарства на 1.40 и 0.77 соответственно. Таким образом, обнаружена высокая вариабельность первичных последовательностей, в связи с чем далее анализировали только бактериальные ДНК-полимеразы семейства А полимераз I типа. При сравнении последовательностей полимераз между родами *Bacillus*, *Geobacillus* и *Thermus* обнаружено, что наибольшее сходство проявляют ферменты микроорганизмов рода *Geobacillus* (98.79%). Чуть меньшую гомологию демонстрируют полимеразы рода *Thermus* (кленовский фрагмент Taq-полимеразы на 87.45% гомологичен Tth-полимеразе). Полимеразы рода *Bacillus* также обладают весьма сходными последовательностями (сходство между Bsm и Bsu 79.53%).

Из семи сравненных выше бактериальных полимераз 5'-3'-экзонуклеазный домен имеют только ферменты, выделенные из двух видов бактерий – *B.subtilis* и *T.thermophilus*. В связи с этим было проведено отдельное сравнение только полимеразных

доменов ферментов, которое показало 34.6% идентичности между анализируемыми последовательностями (рис. 2). Сравнение последовательностей полимеразных доменов с аналогичными показателями для полной последовательности ферментов позволяет нам заключить, что в большинстве случаев полимеразный домен более консервативен, чем вся последовательность полимеразы (в среднем на 6.68%).

Анализ выравнивания полимеразных доменов позволяет заключить, что в целом первичная структура активного центра фермента консервативна. Более того, ближайшее аминокислотное окружение активного центра проявляет большую консервативность, которая по мере удаления от него постепенно снижается. Поскольку одним из факторов, определяющих функционирование фермента, является аминокислотная последовательность активного центра, далее было проведено сравнение последовательностей активных центров ферментов. Наибольшее сходство ожидаемо наблюдалось для представителей внутри родов. Так, активный центр полимеразы рода *Geobacillus* абсолютно идентичен – нет ни одной аминокислотной замены. Активные центры полимеразы рода *Bacillus* (Bsm и Bsu) отличаются только в положении 349A/T. Сходная гомология выявлена и для полимеразы рода *Thermus*: активный центр фрагмента Кленова Taq-полимеразы отличается от Tth-полимеразы в положении 315S/N (рис. 3).

Таблица 2

Идентичность (%) последовательностей полимераз
(обычный шрифт – идентичность первичных аминокислотных последовательностей;
жирный курсивный шрифт – идентичность полимеразных доменов)

Полимеразы	Tth	Klen-Taq	Gss	Bst	Bsu	Bsm	Klenow
Klenow	35.63	38.82	39.77	39.66	39.87	52.09	
Bsm	50.13	50.65	77.43	76.90	79.53		52.09
Bsu	39.75	39.97	67.23	67.30		79.53	50.79
Bst	40.14	42.11	98.79		77.43	76.90	49.21
Gss	40.24	42.29		98.69	78.48	77.43	50.00
Klen-Taq	87.45		52.22	51.70	50.65	50.65	49.61
Tth		90.58	51.70	50.91	50.13	50.13	47.61

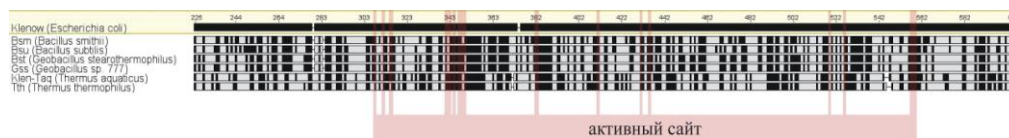


Рис. 2. Выравнивание последовательностей полимеразных доменов ДНК-полимераз (черные блоки – совпадение с аминокислотной последовательностью Кленовского фрагмента, серые – последовательность без гомологии с фрагментом Кленова, линия – пропуск аминокислотной последовательности).

		308	312	315	316	341	342	343	345	347	348	349	350	382	383	411	431	435	519	526	557	558	559
	Klenow (<i>Escherichia coli</i>)	R	K	S	T	T	A	T	R	S	S	T	D	D	Y	H	R	K	A	Q	V	H	D
Bacillus	Bsm (<i>Bacillus smithii</i>)	R	K	S	T	T	A	T	R	S	S	T	D	D	Y	H	R	K	A	Q	V	H	D
	Bsu (<i>Bacillus subtilis</i>)	R	K	S	T	T	A	T	R	S	S	T	D	D	Y	H	R	K	A	Q	V	H	D
Geobacillus	Bst (<i>Geobacillus stearothermophilus</i>)	R	K	S	T	T	A	T	R	S	S	T	D	D	Y	H	R	K	A	Q	V	H	D
	Gss (<i>Geobacillus sp. 777</i>)	R	K	S	T	T	A	T	R	S	S	T	D	D	Y	H	R	K	A	Q	V	H	D
Thermus	Klen-Taq (<i>Thermus aquaticus</i>)	R	K	S	T	T	A	T	R	S	S	T	D	D	Y	H	R	K	A	Q	V	H	D
	Tth (<i>Thermus thermophilus</i>)	R	K	S	T	T	A	T	R	S	S	T	D	D	Y	H	R	K	A	Q	V	H	D

Рисунок 3. Отличия в аминокислотной последовательности активного центра (серым цветом отмечены аминокислоты, аналогичные Кленовскому фрагменту, черным – аминокислотные замены).

Обнаружено, что более половины (17 из 22) аминокислот активного центра являются консервативными. В положениях 308R, 312K, 316T, 341T, 343T, 345R, 347S, 348S, 382D, 383Y, 411H, 431R, 435K, 526Q, 557V, 558H, 559D (нумерация относительно фрагмента Кленова) не обнаружено ни одной замены в выборке из 7 последовательностей. Наибольшая вариабельность среди отдельных аминокислот активного центра наблюдается в пяти положениях: 349 (Т в 4 случаях, S в 2 случаях и А в 1 случае), 519 (М в 4 случаях, Т в 2 случаях и А в 1 случае), 315 (S в 6 случаях, N в 1 случае), 342 (Q в 4 случаях, А в 3 случаях) и 350 (D в 5 случаях, E в 2 случаях) (жирным отмечены варианты аминокислот активного центра фрагмента Кленова *E. coli*). Аминокислоты активного центра фрагмента Кленова в вариабельных положениях представлены аминокислотами, которые встречаются чаще всего. Исключением является позиция 519, в котором у фрагмента Кленова находится аланин, в то время как большинство ферментов содержит метионин.

Таким образом, сравнение аминокислотных последовательностей 18 ДНК-полимераз из организмов, относящихся к трем надцарствам, показывает высокую степень их вариабельности. Последовательности ДНК-полимераз на филогенетическом древе формируют три четких ветви, соответствующих надцарствам Бактерии, Археи и Вирусы. Поскольку степень гомологии полимераз разных надцарств низка, детальное сравнение первичной структуры ферментов возможно только внутри таксонов. Для надцарства Bacteria прослеживается консервативность полимеразного домена и активного центра. Сравнение полимеразного домена бактериальных полимераз показало высокую степень консервативности в районах, прилежащих к активному центру. Выявленные особенности первичной структуры могут способствовать лучшему пониманию особенностей характера амплификации нуклеиновых кислот при использовании бактериальных ДНК-полимераз.

ЛИТЕРАТУРА

- Zhang L., Kang M., Xu J., Huang Y. Archaeal DNA polymerases in biotechnology // *Appl. microbiol. biotechnol.* 2015. Vol. 99. P. 6585–6597.
- McInerney P., Adams P., Hadi M. Z. Error rate comparison during polymerase chain reaction by DNA polymerase // *Mol. biol. int.* 2014.
- Ollis D. L., Brick P., Hamlin R., Xuong N. G., Steitz T. A. Structure of large fragment of *Escherichia coli* DNA polymerase I complexed with dTMP // *Nature.* 1985. Vol. 313. No. 6005. P. 762.
- Saiki R. K., Gelfand D. H., Stoffel S., Scharf S. J., Higuchi R., Horn G. T., Mullis K. B., Erlich H. A. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase // *Science.* 1988. Vol. 239. P. 487–491.
- Al-Soud W. A., Rådström P. Purification and characterization of PCR-inhibitory components in blood cells // *J. clin. microbiol.* 2001. Vol. 39. No. 2. P. 485–493.
- Nakamura L. K., Blumenstock I., Claus D. Taxonomic Study of *Bacillus coagulans* Hammer 1915 with a Proposal for *Bacillus smithii* sp. nov. // *Int. J. Sys. and Evolut. Microbiol.* 1988. Vol. 38. No. 1. P. 63–73.
- Woźniakowski G., Kozdrun W., Samorek-Salamonowicz E. Loop-mediated isothermal amplification for the detection of goose circovirus // *Virolog. J.* Vol. 9. No. 1. P. 110.
- Zhao Y., Zhou L., Tang Z. Cleavage-based signal amplification of RNA // *Nature commun.* 2013. Vol. 4. P. 1493.
- Santiago-Felipe S., Tortajada-Genaro L. A., Puchades R., Maquieira A. Recombinase polymerase and enzyme-linked immunosorbent assay as a DNA amplification-detection strategy for food analysis // *Anal. chim. acta.* 2014. Vol. 811. P. 81–87.
- Nazina T. N., Tourova T. P., Poltaraus A. B., Novikova E. V., Grigoryan A. A., Ivanova A. E., ... Ivanov M. V. Taxonomic study of aerobic thermophilic bacilli: descriptions of *Geobacillus subterraneus* gen. nov., sp. nov. and *Geobacillus uzensis* sp. nov. from petroleum reservoirs and transfer of *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus thermocatenulatus*, *Bacillus thermoleovorans*, *Bacillus kaustophilus*, *Bacillus thermodenitrificans* to Geobacillus as the new combinations *G. stearothermophilus*, G. th. // *Int. J. system. and evol. microbiol.* 2001. Vol. 51. No. 2. P. 433–446.
- Oscorbin I. P., Boyarskikh U. A., Filipenko M. L. Large fragment of DNA polymerase I from *Geobacillus sp. 777*: cloning and comparison with DNA polymerases I in practical applications // *Mol. biotechnol.* 2015. Vol. 57. No. 10. P. 947–959.
- Oscorbin I. P., Belousova E. A., Boyarskikh U. A., Zakabunin A. I., Khrapov E. A., Filipenko M. L. Derivatives of Bst-like Gss-polymerase with improved processivity and inhibitor tolerance // *Nucleic Acids Res.* 2017. Vol. 45. No. 16. P. 9595–9610.
- Lundberg K. S., Shoemaker D. D., Adams M. W., Short J. M., Sorge J. A., Mathur E. J. High-fidelity amplification using a thermostable DNA polymerase isolated from *Pyrococcus furiosus* // *Gene.* 1991. Vol. 108. No. 1. P. 1–6.
- Terpe K. Overview of thermostable DNA polymerases for classical PCR applications: from molecular and biochemical fundamentals to commercial systems // *Ap. microbiol. and biotechnol.* 2013. Vol. 97. No. 24. P. 10243–10254.
- Dąbrowski S., Kur J. Cloning and expression in *Escherichia coli* of the recombinant His-tagged DNA polymerases from *Pyrococcus furiosus* and *Pyrococcus woesei* // *Prot. expres. and purif.* 1998. Vol. 14. No. 1. P. 131–138.
- Neuner A., Jannasch H. W., Belkin S., Stetter K. O. *Thermococcus litoralis* sp. nov.: a new species of extremely thermo-

- philic marine archaeobacteria // Arch. microbiol. 1990. Vol. 153. No. 2. P. 205–207.
17. Miroshnichenko M. L., Gongadze G. M., Rainey F. A., Kostyukova A. S., Lysenko A. M., Chernyh N. A., Bonch-Osmolovskaya E. A. *Thermococcus gorgonarius* sp. nov. and *Thermococcus pacificus* sp. nov.: heterotrophic extremely thermophilic archaea from New Zealand submarine hot vents // Int. J. System. and Evolut. Microbiol. 1998. Vol. 48. No. 1. P. 23–29.
 18. Greenough L., Menin J. F., Desai N. S., Kelman Z., Gardner A. F. Characterization of family D DNA polymerase from *Thermococcus* sp. 9 N // Extremophiles. 2014. Vol. 18. No. 4. P. 653–664.
 19. Lipps G., Röther S., Hart C., Krauss G. A novel type of replicative enzyme harbouring ATPase, primase and DNA polymerase activity // The EMBO J. 2003. Vol. 22. No. 10. P. 2516–2525.
 20. Paez J. G., Lin M., Beroukhim R., Lee J. C., Zhao X., Richter D. J., ... Sellers W. R. Genome coverage and sequence fidelity of ϕ 29 polymerase - based multiple strand displacement whole genome amplification // Nucleic Acids Res. 2004. Vol. 32. No. 9. P. 71.
 21. Engler M. J., Lechner R. L., Richardson C. C. Two forms of the DNA polymerase of bacteriophage T7 // J. Biol. Chem. 1983. Vol. 258. No. 18. P. 11165–11173.
 22. Davidson J. F., Fox R., Harris D. D., Lyons - Abbott S., Loeb L. A. Insertion of the T3 DNA polymerase thioredoxin binding domain enhances the processivity and fidelity of Taq DNA polymerase // Nucleic Acids Res. 2003. Vol. 31. No. 16. P. 4702–4709.
 23. Berman H. M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T. N., Weissig H., Shindyalov I. N., Bourne P. E. The Protein Data Bank // Nucleic Acids Res. 2000. Vol. 28. P. 235–242.

Поступила в редакцию 16.06.2018 г.

COMPARISON OF AMINO ACID SEQUENCES OF COMMERCIAL DNA POLYMERASES

© O. I. Mashkov*, R. R. Garafutdinov

*Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center of RAS
71 Oktyabrya Avenue, 450054 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.*

Phone: +7 (347) 235 60 88.

**Email: mashkov.sci@gmail.com*

At the present time, one of the main techniques of molecular biology and genetics is amplification of nucleic acids, which is carried out with the help of DNA polymerases. DNA polymerases with different characteristics are commercially available. In order to select DNA polymerases with the required characteristics, it is necessary to understand the repercussion of the amino acid sequence on the three-dimensional organization of the proteinaceous globule and its folding. The authors of the article compared amino acid sequences of eighteen DNA polymerases. These polymerases are constitute parts of representatives of the following superkingdoms: Bacteria, Archea, and Viruses. The amino acid sequences of all three superkingdoms form three well-defined branches on the phylogenetic tree in accordance with the above-mentioned superkingdoms. The results of comparison of DNA polymerase domains within the Bacteria superkingdom showed that the DNA polymerase domain is conservative, in particular in the regions contiguous to the enzymatic active center. The ascertained characteristics of the amino acid sequences of eighteen enzymes contribute to a better understanding of the particularity of amplification of nucleic acids in the cases then the amplification involves bacterial DNA polymerases.

Keywords: DNA polymerase, amino acid sequence, nucleic acids amplification, polymerase domain, active site.

Published in Russian. Do not hesitate to contact us at bulletin_bsu@mail.ru if you need translation of the article.

REFERENCES

1. Zhang L., Kang M., Xu J., Huang Y. *Appl. microbiol. biotechnol.* 2015. Vol. 99. Pp. 6585–6597.
2. McInerney P., Adams P., Hadi M. Z. *Mol. biol. int.* 2014.
3. Ollis D. L., Brick P., Hamlin R., Xuong N. G., Steitz T. A. *Nature.* 1985. Vol. 313. No. 6005. Pp. 762.
4. Saiki R. K., Gelfand D. H., Stoffel S., Scharf S. J., Higuchi R., Horn, G. T., Mullis K. B., Erlich H. A. *Science.* 1988. Vol. 239. Pp. 487–491.
5. Al-Soud W. A., Rådström P. *J. clin. microbiol.* 2001. Vol. 39. No. 2. Pp. 485–493.
6. Nakamura L. K., Blumenstock I., Claus D. *Int. J. Sys. and Evolut. Microbiol.* 1988. Vol. 38. No. 1. Pp. 63–73.
7. Woźniakowski G., Kozdrun W. *Virol. J. Vol. 9. No. 1. Pp. 110.*
8. Zhao Y., Zhou L., Tang Z. *Nature commun.* 2013. Vol. 4. Pp. 1493.
9. Santiago-Felipe S. *Anal. chim. act.* 2014. Vol. 811. Pp. 81–87.
10. Nazina T. N., Tourova T. P., Poltaraus A. B., Novikova E. V., Grigoryan A. A., Ivanova A. E., ... Ivanov M. V. *Int. J. system. and evol. microbiol.* 2001. Vol. 51. No. 2. Pp. 433–446.
11. Oscorbin I. P., Boyarskikh U. A., Filipenko M. L. *Mol. biotechnol.* 2015. Vol. 57. No. 10. Pp. 947–959.
12. Oscorbin I. P., Belousova E. A., Boyarskikh U. A., Zakabunin A. I., Khrapov E. A., Filipenko M. L. *Nucleic Acids Res.* 2017. Vol. 45. No. 16. Pp. 9595–9610.
13. Lundberg K. S., Shoemaker D. D., Adams M. W., Short J. M., Sorge J. A., Mathur E. J. *Gene.* 1991. Vol. 108. No. 1. Pp. 1–6.
14. Terpe K. *Ap. microbiol. and biotechnol.* 2013. Vol. 97. No. 24. Pp. 10243–10254.
15. Dąbrowski S., Kur J. *Prot. expres. and purif.* 1998. Vol. 14. No. 1. Pp. 131–138.
16. Neuner A., Jannasch H. W., Belkin S., Stetter K. O. *Arch. microbiol.* 1990. Vol. 153. No. 2. Pp. 205–207.
17. Miroshnichenko M. L., Gongadze G. M., Rainey F. A., Kostyukova A. S., Lysenko A. M., Chernyh N. A. *Int. J. System. and Evolut. Microbiol.* 1998. Vol. 48. No. 1. Pp. 23–29.
18. Greenough L., Menin J. F., Desai N. S., Kelman Z., Gardner A. F. *Extremophiles.* 2014. Vol. 18. No. 4. Pp. 653–664.
19. Lipps G., Röther S., Hart C., Krauss G. *The EMBO J.* 2003. Vol. 22. No. 10. Pp. 2516–2525.
20. Paez J. G., Lin M., Beroukhim R., Lee J. C., Zhao X., Richter D. J., ... Sellers W. R. *Nucleic Acids Res.* 2004. Vol. 32. No. 9. Pp. 71.
21. Engler M. J., Lechner R. L., Richardson C. C. *J. Biol. Chem.* 1983. Vol. 258. No. 18. Pp. 11165–11173.
22. Davidson J. F., Fox R., Harris D. D., Lyons - Abbott S., Loeb L. A. *Nucleic Acids Res.* 2003. Vol. 31. No. 16. Pp. 4702–4709.
23. Berman H. M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T. N., Weissig H., Shindyalov I. N., Bourne P. E. *Nucleic Acids Res.* 2000. Vol. 28. Pp. 235–242.

Received 16.06.2018.