



Самый главный фермент нуклеинового обмена (редакторская статья)

Э.К. Хуснутдинова

Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН
Российская Федерация, 450054, Уфа, пр. Октября, 71
E-mail: elzakh@mail.ru

Резюме

Если считать ДНК самой главной молекулой среди биополимеров, то ДНК полимеразы, вне всякого сомнения, является самым главным ферментом нуклеинового обмена. Причем не только в живой Природе, обеспечивая продолжение Жизни, но и в экспериментальных исследованиях в системах *in vitro* в области физико-химической биологии и в смежных дисциплинах, в которых, так или иначе, оказываются задействованы молекулы ДНК, включая амплификацию их специфичных участков, что находит широкое применение в различной диагностике. При этом для этих целей требуются термостабильные ферменты, выдерживающие длительный нагрев при 95°C. Подобных ферментов из термофильных эубактерий и архей выделено немало. Первым обнаруженным в *E.coli* ферментом 70 лет назад стала ДНК полимеразы I. Спустя 20 лет (50 лет назад) был выделен фермент Таq полимеразы из термофильной эубактерии *Thermus aquaticus*. 35 лет назад была выделена более термостабильная Pfu полимеразы из археи *Pfycoccus furiosus*. В данном номере электронного журнала Biomics, выходящем в юбилейный для него пятнадцатый год, содержатся несколько статей, посвященных ДНК полимеразам, что делает данный номер журнала по сути тематическим. Также не обойден вниманием химический синтез олигонуклеотидов, без которого проведение ПЦР просто невозможно.

Ключевые слова: ДНК, ДНК полимеразы, термостабильная ДНК полимеразы, ПЦР, химический синтез олигонуклеотидов

Цитирование: Хуснутдинова Э.К. Самый главный фермент нуклеинового обмена. (Редакторская статья). *Biomics*. 2026. 18(2). 115-119. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2026-8

© Автор, Э.К. Хуснутдинова, 2026

The most important enzyme of nucleic metabolism (Editorial)

E.K. Khusnutdinova

Institute of Biochemistry and Genetics - Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences
71 Prospekt Oktyabrya, Ufa, 450054, Russian Federation
E-mail: elzakh@mail.ru

Resume

If DNA is considered the most important molecule among biopolymers, then DNA polymerase is undoubtedly the most important enzyme of nucleic metabolism. Moreover, not only in wildlife, ensuring the continuation of Life, but also in experimental studies in the *in vitro* system in the field of molecular biology and in related disciplines, in which, one

way or another, DNA molecules are involved, including amplification of their specific sites, which is widely used in various diagnostics. At the same time, for these purposes, thermostable enzymes are required that can withstand prolonged heating at 95°C. Many similar enzymes have been isolated from thermophilic eubacteria and archaea. The first enzyme discovered in *E.coli* 70 years ago was DNA polymerase I. 20 years later (50 years ago), the enzyme Taq polymerase was isolated from the thermophilic eubacterium *Thermus aquaticus*. 35 years ago, a more thermostable Pfu polymerase was isolated from the archaea *Pyrococcus furiosus*. This issue of the electronic journal *Biomics*, published for him in the fifteenth anniversary year, contains several articles on DNA polymerases, which makes this issue of the journal essentially thematic. Also, the chemical synthesis of oligonucleotides is not ignored, without which PCR is simply impossible.

Keywords: DNA, DNA polymerase, thermostable DNA polymerase, PCR, chemical synthesis of oligonucleotides

Citation: Khusnutdinova E.K. The most important enzyme of nucleic metabolism. (Editorial). *Biomics*. 2026. 18(2). 115-119. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2026-8 (In Russian)

© The Author, E.K. Khusnutdinova, 2026

На 2026 г. приходится много юбилейных дат, связанных с физико-химической биологией, пройти мимо части которых мы не смогли. Начнем издавала. Поначалу мир на нашей Планете был РНКовым и не существовало никаких ферментов в нынешнем понимании, что это должны быть белковые молекулы, поскольку тогда были так называемые рибозимы, выполняющие над цепочками РНК не самые сложные каталитические операции и, как ни странно, сохранившиеся до сего дня¹. Постепенно древняя примитивная Жизнь «налаживалась», и мир через какое-то время, сохранив такой важный тип молекул как РНК, в массе своей стал ДНКовым, имея в виду способ наследования и передачи генетической информации. Наряду с прочими биополимерами появились белки, перенявшие у рибозимов некоторые каталитические функции и развившие свои собственные, среди которых оказались такие ферменты как ДНК полимеразы, способные строить новые цепи, комплементарные исходным, обеспечивая их копирование. Можно смело утверждать, что сейчас ДНК полимеразы – это самые главные ферменты нуклеинового обмена. Точно также среди биополимеров самой главной молекулой можно считать ДНК. В целом, различный синтез нуклеиновых кислот, а также деструкцию этих биополимеров ведет (если учитывать их целевые предназначения) пара десятков типов разных ферментов. Что касается непосредственно ДНК полимераз, то их существует два вида – ДНК-зависимые ДНК полимеразы и РНК-зависимые ДНК полимеразы. Первые типичны для всего Живого, тогда как вторые присущи некоторым вирусам с РНК-геномами, в своем жизненном цикле

встраивающимися в геном хозяина в виде их ДНК-копии. К РНК-зависимым ДНК полимеразам относятся различные ретротранспозоны, а также теломеразы эукариотических организмов, но последние выполняют особую функцию, многократно копируя короткие мотивы теломерных концов хромосом, приводя в итоге к весьма большой длине этих участков, имеющих, впрочем, свойство укорачиваться при репликации в силу специфики работы ДНК полимераз, строящих цепи ДНК в 5'→3'-направлении. Причем ДНК полимеразы являются многофункциональными ферментами, и кроме полимеризующей активности некоторые несут разнонаправленные экзонуклеазные активности: 5'→3'-репарирующую активность и 3'→5'-редактирующую активность. Есть еще ДНК-зависимые РНК полимеразы и РНК-зависимые РНК полимеразы. Последние копируют РНК-вирусы, невстраивающиеся в ДНК хозяев, а первые опять-таки имеются у всего Живого и передают информацию от ДНК к РНК, что в том числе ведет к биосинтезу белков, включая ферменты и среди них те же самые разнообразные ДНК и РНК полимеразы.

ДНК полимеразы, копируя себе подобные молекулы, обеспечивают размножение различных организмов всех уровней генетической сложности, поддерживая тем самым современную Жизнь на нашей Планете. При этом ДНК полимеразы оказались по существу самыми главными ферментами также и при различных исследованиях нуклеиновых кислот в системах *in vitro*, проделывая с ними при копировании и амплификации разнообразные действия. Для этих целей основное применение нашли бактериальные и архейные ДНК полимеразы из А и В семейств этих ферментов, выделяемые как нативные ферменты из мезофильных, термофильных, гипертермофильных и даже психрофильных микроорганизмов, так и их рекомбинантные формы,

¹ причем в настоящее время с помощью генной инженерии превратившиеся даже в ряде случаев в дезоксирибозимы

создаваемые в результате генно-инженерных манипуляций. В данном номере журнала различным бактериальным и архейным ДНК полимеразам посвящена целая серия статей, что фактически делает этот выпуск журнала почти полностью тематическим. При этом в редакционном «портфеле» журнала *Biomics* находятся еще несколько статей по термостабильным ДНК полимеразам, проходящие в данный момент этап рецензирования, и с высокой вероятностью они будут опубликованы в очередных номерах.

Но все началось с открытия 70 лет назад весной 1956 г. фермента ДНК полимеразы I из мезофильной бактерии кишечной палочки *Escherichia coli*, называемой иногда ферментом Корнберга [Kornberg et al., 1956]. Спустя три года за это открытие А.Корнберг получил Нобелевскую премию, которую разделил с С.Очоа, получившим ее за открытие в 1955 г. фермента полинуклеотидфосфорилазы, которому вместе с открытым в 1960 г. F.Bollum терминальной нуклеотидилтрансферазой, или иначе ферментом Боллума, наш журнал посвятил отдельную статью в декабрьском номере 2025 г. [Гарафутдинов и др., 2025].

С момента обнаружения Корнбергом первой ДНК полимеразы на протяжении многих лет продолжались активные исследования этого фермента, но его структурно-функциональная организация была выяснена только через четверть века после молекулярного клонирования гена данной ДНК полимеразы в той же *E.coli* и его секвенирования [Joyce et al., 1982]. Чуть позже удалось создать генно-инженерную конструкцию для продукции данной ДНК полимеразы, но при этом несколько укороченной и названной Кленовским фрагментом ДНК полимеразы I, лишенной 5'→3'-экзонуклеазной активности [Joyce, Grindley, 1983]. Именно Кленовский фрагмент нашел применение в первых громоздких вариантах ПЦР [Saiki et al., 1985], требовавших добавления новых порций фермента в каждом цикле из-за невыдерживания им высокой температуры на этапе денатурации исходных цепей ДНК, а также нарабатываемых ампликонов. При этом удивительным можно считать то, что прошло несколько лет, прежде чем в ПЦР стала использоваться термостабильная ДНК полимеразы, выделяемая из термофильной зубактерии *Thermus aquaticus* [Kogan et al., 1987; Saiki et al., 1988]. Получается, что молекулярные биологи не знали, что такой фермент уже давно был известен микробиологам, но те в свою очередь не знали, что можно с ним делать. Так, 50 лет назад в 1976 г. была выделена и очищена термостабильная Taq полимеразы [Chien et al., 1976], но тогда дельного применения ей

не нашлось. Потребовалось более 10 лет, прежде чем Taq полимеразы заняла более чем достойное место в арсенале молекулярных биологов, а затем и экспериментаторов многих других смежных специальностей. Причем в этот десятилетний промежуток отечественными авторами в 1980-1982 гг. были опубликованы три статьи, описывающие выделение таких ДНК полимераз из той же *T.aquaticus* и родственных ей видов *T.flavus* и *T.ruber* [Каледин и др., 1980; 1981; 1982]. Однако термостабильность Taq полимеразы для некоторых задач недостаточна, и пришлось обратить внимание на гипертермофильные археи, живущие при 100°C и выше. В 1986 г. (40 лет назад) впервые была выделена ДНК полимеразы из термофильной археи *Methanobacterium thermoautotrophicum* [Klimczak et al., 1986], но термостабильность того фермента оказалась также невысокой, и применения в ПЦР он не нашел. Спустя пять лет (35 лет назад), в 1991 г. из другой археи *Pyrococcus furiosus* выделена Pfu полимеразы, обладающая сильной 5'→3'-экзонуклеазной редактирующей активностью, что обеспечивает намного более точное воспроизведение амплифицируемой ДНК в ПЦР, к тому же характеризующейся большей термостабильностью [Lundberg et al., 1991]. Поэтому данный фермент стал весьма популярен, все же заметно уступая по масштабу применения Taq полимеразе. После этого термостабильные ДНК полимеразы выделены из многих архей и зубактерий, часть которых находит применение в ПЦР.

Проведение ПЦР, помимо обязательного наличия в реакционной смеси анализируемых молекул нуклеиновых кислот, невозможно без требующей ионы магния термостабильной ДНК полимеразы, субстратом для которой служат дНТФ. Еще одним важным компонентом для ПЦР являются короткие олигонуклеотидные праймеры, синтезируемые сейчас химическим путем, которые, отжигаясь на целевых местах исследуемых матриц, обеспечивают специфичность амплификации. Химический синтез олигонуклеотидов (динуклеотидов) впервые был осуществлен в 1955 г. [Michelson, Todd, 1955]. С того момента прошло уже более 70 лет, и за это время проделан огромный путь, благодаря чему из очень длительной трудоемкой работы по синтезу олигонуклеотидов, которая была под силу только высококлассным химикам-синтетикам, теперь это превратилось в довольно рядовую² и относительно быструю процедуру автоматического синтеза олигонуклеотидов амидофосфитным методом, выполняемого на заказ

² здесь имеются ввиду обычные олигонуклеотиды, не несущие какие-либо модификации

многими фирмами, включая ООО «Синтол», сотрудники которого вместе с коллегами из Института биохимии и генетики УФИЦ РАН подготовили для данного номера журнала большую обзорную статью, затрагивающую как историю вопроса, так и перспективы развития химического синтеза олигонуклеотидов не только на твердой фазе, но и в растворе, а также его масштабированию, которое, вполне ожидаемо, потребуется уже в скором будущем.

Наконец, на 2026 г. приходится 15-летие издания электронного сетевого журнала *Biomics*, в более чем полусотне номеров которого за эти годы опубликованы около 450 обзорных и экспериментальных статей преимущественно в области физико-химической биологии, авторами которых стали свыше 500 специалистов как России, так ближнего и дальнего зарубежья. При этом в 47 статьях содержится слово «полимераза», и это не считая данного номера журнала, что также подтверждает важность этих ферментов, и непреходящий интерес к ним.

Литература

1. Гарифутдинов Р.Р., Никоноров Ю.М., Сахабутдинова А.Р. и др. Ферментативный синтез олигонуклеотидов. *Biomics*. 2025. 17(4). 337-351. doi: 10.31301/2221-6197.bmcs.2025-30
2. Каледин А.С., Слюсаренко А.Г., Городецкий С.И. Выделение и свойства ДНК-полимеразы из экстремально-термофильной бактерии *Thermus aquaticus* YТ1. *Биохимия*. 1980. 45(4). 644-651.
3. Каледин А.С., Слюсаренко А.Г., Городецкий С.И. Выделение и свойства ДНК-полимеразы из экстремально-термофильной бактерии *Thermus flavus*. *Биохимия*. 1981. 46(9). 1576-1581.
4. Каледин А.С., Слюсаренко А.Г., Городецкий С.И. Выделение и свойства ДНК-полимеразы из экстремально-термофильной бактерии *Thermus ruber*. *Биохимия*. 1982. 47(11). 1785-1791.
5. Chien A, Edgar DB, Trela JM. Deoxyribonucleic acid polymerase from the extreme thermophile *Thermus aquaticus*. *J Bacteriol*. 1976. 127(3). 1550-1557. doi: 10.1128/jb.127.3.1550-1557.1976
6. Klimczak LJ, Grummt F, Burger KJ. Purification and characterization of DNA polymerase from the archaeobacterium *Methanobacterium thermoautotrophicum*. *Biochemistry*. 1986. 25(17). 4850-4855. doi: 10.1021/bi00365a019
7. Joyce CM, Grindley ND. Construction of a plasmid that overproduces the large proteolytic fragment (Klenow fragment) of DNA polymerase I of *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1983. 80(7). 1830-1834. doi: 10.1073/pnas.80.7.1830

8. Joyce CM, Kelley WS, Grindley ND. Nucleotide sequence of the *Escherichia coli* polA gene and primary structure of DNA polymerase I. *J Biol Chem*. 1982. 257(4). 1958-1964. doi: 10.1016/S0021-9258(19)68132-9
9. Kogan SC, Doherty M, Gitschier J. An improved method for prenatal diagnosis of genetic diseases by analysis of amplified DNA sequences. Application to hemophilia A. *New Engl. J. Med*. 1987. 317(16). 985-990. doi: 10.1056/NEJM198710153171603
10. Kornberg A, Lehman IR, Simms ES. Polydesoxyribonucleotide synthesis by enzyme from *Escherichia coli*. *Federation Proc*. 1956. 15(1). 291-292.
11. Lundberg KS, Shoemaker DD, Adams MW et al. High-fidelity amplification using a thermostable DNA polymerase isolated from *Pyrococcus furiosus*. *Gene*. 1991. 108(1). 1-6. doi: 10.1016/0378-1119(91)90480-y
12. Michelson AM, Todd AR. Nucleotides part XXXII. Synthesis of a dithymidine dinucleotide containing a 3': 5'-internucleotidic linkage. *J. Chem. Soc*. 1955. (0). 2632-2638. doi: 10.1039/JR9550002632
13. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*. 1988. 239(4839). 487-491. doi: 10.1126/science.2448875
14. Saiki RK, Scharf S, Faloona F et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*. 1985. 230(4732). 1350-1354. doi: 10.1126/science.2999980

References

1. Chien A, Edgar DB, Trela JM. Deoxyribonucleic acid polymerase from the extreme thermophile *Thermus aquaticus*. *J Bacteriol*. 1976. 127(3). 1550-1557. doi: 10.1128/jb.127.3.1550-1557.1976
2. Garafutdinov R.R., Nikonorov Yu.M., Sakhabutdinova A.R. et al. Enzymatic synthesis of oligonucleotides. *Biomics*. 2025. 17(4). doi: P.337-351. doi: 10.31301/2221-6197.bmcs.2025-30 (In Russian)
3. Joyce CM, Grindley ND. Construction of a plasmid that overproduces the large proteolytic fragment (Klenow fragment) of DNA polymerase I of *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1983. 80(7). 1830-1834. doi: 10.1073/pnas.80.7.1830
4. Joyce CM, Kelley WS, Grindley ND. Nucleotide sequence of the *Escherichia coli* polA gene and primary structure of DNA polymerase I. *J Biol Chem*. 1982. 257(4). 1958-1964. doi: 10.1016/S0021-9258(19)68132-9
5. Kaledin AS, Slyusarenko AG, Gorodetskyj SI. Isolation and properties of DNA polymerase from extremal thermophilic bacteria *Thermus aquaticus* YТ1. *Biochemistry (Moscow)*. 1980. 45(4). 644-651. (In Russian)
6. Kaledin AS, Slyusarenko AG, Gorodetskyj SI. Isolation and properties of DNA polymerase from

- extremal thermophilic bacteria *Thermus flavus*. *Biochemistry (Moscow)*. 1981. 46(9). 1576-1581. (In Russian)
7. Kaledin AS, Slyusarenko AG, Gorodetskyj SI. Isolation and properties of DNA-polymerase from extremal thermophilic bacteria *Thermus ruber*. *Biochemistry (Moscow)*. 1982. 47(11). 1785-1791. (In Russian)
8. Klimczak LJ, Grummt F, Burger KJ. Purification and characterization of DNA polymerase from the archaeobacterium *Methanobacterium thermoautotrophicum*. *Biochemistry*. 1986. 25(17). 4850-4855. doi: 10.1021/bi00365a019
9. Kogan SC, Doherty M, Gitschier J. An improved method for prenatal diagnosis of genetic diseases by analysis of amplified DNA sequences. Application to hemophilia A. *New Engl. J. Med.* 1987. 317(16). 985-990. doi: 10.1056/NEJM198710153171603
10. Kornberg A, Lehman IR, Simms ES. Polydesoxyribonucleotide synthesis by enzyme from *Escherichia coli*. *Federation Proc.* 1956. 15(1). 291-292.
11. Lundberg KS, Shoemaker DD, Adams MW et al. High-fidelity amplification using a thermostable DNA polymerase isolated from *Pyrococcus furiosus*. *Gene*. 1991. 108(1). 1-6. doi: 10.1016/0378-1119(91)90480-y
12. Michelson AM, Todd AR. Nucleotides part XXXII. Synthesis of a dithymidine dinucleotide containing a 3': 5'-internucleotidic linkage. *J. Chem. Soc.* 1955. (0). 2632-2638. doi: 10.1039/JR9550002632
13. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*. 1988. 239(4839). 487-491. doi: 10.1126/science.2448875
14. Saiki RK, Scharf S, Faloona F et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*. 1985. 230(4732). 1350-1354. doi: 10.1126/science.2999980