



ДНК-зависимые ДНК-полимеразы

¹Р.Р. Гарафутдинов*, ¹Ан.Х. Баймиев, ¹А.Р. Сахабутдинова,
¹Р.Т. Матниязов, ¹Б.Р. Кулуев, ¹Ал.Х. Баймиев, ²В.В. Зубов

¹Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН
Российская Федерация, 450054, Уфа, пр. Октября, 71

²Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
142290, Московская обл., г. Пушкино, ул. Институтская, д.3

*E-mail: garafutdinovr@mail.ru

Резюме

ДНК-зависимые ДНК-полимеразы являются многофункциональными ферментами. Помимо своего основного предназначения – строить цепь ДНК, комплементарную матричной, они выступают как экзонуклеазы, разрушающие одну из цепей ДНК, характеризуясь разнонаправленными 3'→5'- и 5'→3'-активностями, за которые отвечают соответствующие домены этих крупных белков. При этом домены, отвечающие за экзонуклеазные активности, располагаются на N-конце белка, тогда как нуклеотидилтрансферный домен расположен на С-конце. Подобная топология их организации практически одина для всех ферментов этой группы. Кроме того, некоторые ДНК-полимеразы вместо репарирующей активности обладают цепь-вытесняющей активностью, вытесняя встречающуюся им старую цепь ДНК. Показано также, что ДНК-полимеразы способны катализировать пирофосфоролиз. Обнаруженные у разных организмов ДНК-полимеразы формируют семь семейств, из которых в ПЦР находят применение термостабильные ферменты зубактерий из А-семейства и архейные из В-семейства. Архейные ДНК-полимеразы обладают редактирующей активностью, обеспечивая более высокую точность копирования при амплификации, тогда как некоторые генно-инженерные ДНК-полимеразы лишены обеих экзонуклеазных активностей.

Ключевые слова: ДНК-полимераза, семейства ДНК-полимераз, полимеразный домен, 5'→3'-эксонуклеазный домен, 3'→5'-эксонуклеазный домен, репарирующая активность, редактирующая активность, пирофосфоролиз

Цитирование: Гарафутдинов Р.Р., Баймиев Ан.Х., Сахабутдинова А.Р., Матниязов Р.Т., Кулуев Б.Р., Баймиев Ал.Х., Зубов В.В. ДНК-зависимые ДНК-полимеразы. *Biomics*. 2026. 18(1). 120-129. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2026-9

© **Авторы,** Р.Р. Гарафутдинов, Ан.Х. Баймиев, А.Р. Сахабутдинова, Р.Т. Матниязов, Б.Р. Кулуев, Ал.Х. Баймиев, В.В. Зубов, 2026

DNA-dependent DNA polymerases

¹R.R. Garafutdinov*, ¹An.Kh. Baymiev, ¹A.R. Sakhabutdinova,
¹R.T. Matniyazov, ¹B.R. Kuluev, ¹Al.Kh. Baymiev, ²V.V. Zubov

¹Institute of Biochemistry and Genetics of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences
71 Prospekt Oktyabrya, Ufa, 450054, Russian Federation

²Institute of Theoretical and Experimental Biophysics RAS
3 Institutskaja str., 142290, Pushchino, Moscow region, Russian Federation

E-mail: garafutdinovr@mail.ru

Resume

DNA-dependent DNA polymerases are multifunctional enzymes. In addition to their main purpose of building a new DNA chain complementary to the template, they act as exonucleases, characterized by multidirectional 3'→5'-editing and 5'→3'-repairing activities, for which the corresponding domains of this large protein are responsible. The domains responsible for exonuclease activities are located at the N-terminus of the protein, whereas the nucleotidyltransferase domain is located at the C-terminus and this topology of their organization is practically the same for all these enzymes. In addition, some DNA polymerases have strand-displacement activity instead of repairing activity. DNA polymerases are also capable to catalyze pyrophosphorolysis. The DNA polymerases found in different organisms form seven families, of which the thermostable enzymes of Eubacteria from the A family and archaeal enzymes from the B family are used in PCR. Archaeal DNA polymerases carry editing activity, providing higher fidelity during amplification. Some genetically engineered DNA polymerases lack exonuclease activities.

Keywords: DNA polymerase, family of DNA polymerases, polymerase domain, 5'→3'-exonuclease domain, 3'→5'-exonuclease domain, repairing activity, editing activity, pyrophosphorolysis

Citation: Garafutdinov R.R., Baymiev An.Kh., Sakhabutdinova A.R., Matniyazov R.T., Kuluev B.R., Baymiev Al.Kh., Zubov V.V. DNA-dependent DNA polymerases. *Biomics*. 2026. 18(1). 120-129. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2026-9 (In Russian)

© **The Authors**, R.R. Garafutdinov, An.Kh. Baymiev, A.R. Sakhabutdinova, R.T. Matniyazov, B.R. Kuluev, Al.Kh. Baymiev, V.V. Zubov, 2026

Введение

Весной 2026 г. исполняется 70 лет с момента обнаружения во всех смыслах очень важного фермента – ДНК-полимеразы, представляющей собой сложную биологическую машину, выполняющую как химические, так и механические функции. Спустя всего несколько лет после открытия Дж.Уотсоном и Ф.Криком в 1953 г. структуры ДНК в виде двойной спирали в 1956 г. из мезофильной бактерии кишечной палочки *Escherichia coli* был выделен называемый иногда полимеразой Корнберга фермент, отвечающий за синтез данного биополимера, что было опубликовано в виде тезисов в Federation Proceedings [Kornberg et al., 1956]. Вскоре автор той и соавтор нескольких других публикаций по этой теме [Bessman et al., 1956; 1958; Lehman et al., 1958] А.Корнберг получил Нобелевскую премию по физиологии и медицине в 1959 г. «за открытие механизмов биологического синтеза рибонуклеиновой и дезоксирибонуклеиновой кислот». Неудивительно, что за этим последовало активное изучение данного фермента, но при этом потребовалось немало лет, чтобы стали ясны его структурно-функциональные особенности, что оказалось возможным только после молекулярного клонирования гена данной ДНК-полимеразы I *E. coli* в фаговом векторе в той же *E. coli* и его секвенирования [Joyce et al., 1982]. При этом нельзя не упомянуть об укороченном варианте этого фермента, который путем ограниченного энзиматического расщепления субтилизином цельного фермента был получен еще в 1970 г. и назван по фамилии одного из авторов Кленовским фрагментом ДНК-полимеразы I *E. coli* [Klenow,

Overgaard-Hansen, 1970]. Но только в 1983 г. удалось создать генно-инженерную конструкцию для продукции этого укороченного фермента ДНК-полимеразы I в *E. coli* [Joyce, Grindley, 1983]. Позже рентгеновской дифракцией была установлена структура кодируемого им белка в комплексе с дезоксирибонуклеотидтрифосфатом [Ollis et al., 1985].

Акцентируем внимание на всех этих работах не случайно, поскольку они явились пионерными для последующих исследований различных ДНК-полимераз, но наибольший интерес для нас представляют бактериальные и архейные термостабильные ферменты, находящие применение в ПЦР. Но при этом нельзя обойти вниманием современную классификацию подразделяемых на семь семейств ДНК-полимераз, включая полимеразы эукариотических организмов и органелл.

Что касается РНК-зависимых ДНК-полимераз, формирующих отдельное семейство, то они заслуживают отдельной статьи. Здесь они упоминаются только вскользь, как и некоторые другие ферменты нуклеинового обмена, ведущие тот или иной синтез полинуклеотидных цепей.

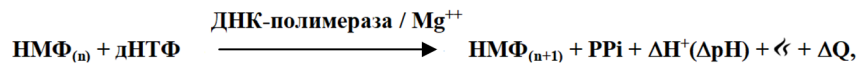
Ферментативные активности ДНК-полимераз

ДНК-полимеразы разных организмов осуществляют матричный синтез (за единственным исключением¹) в направлении 5'→3' по отношению к синтезируемой цепи. При этом, помимо основного продукта в виде растущей цепи ДНК, образуются побочные продукты, а также выделяется тепловая

¹ которого ниже коснемся специально

энергия. И в системе *in vitro* за счет увеличения количества отрицательно заряженных остатков фосфорной кислоты в составе данного биополимера изменяется импеданс реакционной смеси, что позволяет регистрировать эти меняющиеся значения

при по-нуклеотидном (пошаговом) построении цепи ДНК, например при секвенировании посредством синтеза с помощью разных технологий, что в виде некоей формулы приведено ниже.



где **PPi** обозначает пирофосфат; $\Delta\text{H}^+(\Delta\text{pH})$ отражает изменение концентрации протонов в реакционной смеси, приводящее к сдвигу pH; символ \llcorner указывает на выделяющееся тепло при разрыве макроэргических связей в молекулах дНТФ; ΔQ обозначает изменение импеданса сенсорной ячейки при удлинении цепи ДНК.

Однако эта формула справедлива только для нуклеотидилтрансферазной (полимеразной) активности ДНК-полимераз, схематично изображенной на рис. 1.

При этом данные ферменты обладают и другими активностями, показанными на рис. 2 - 6.

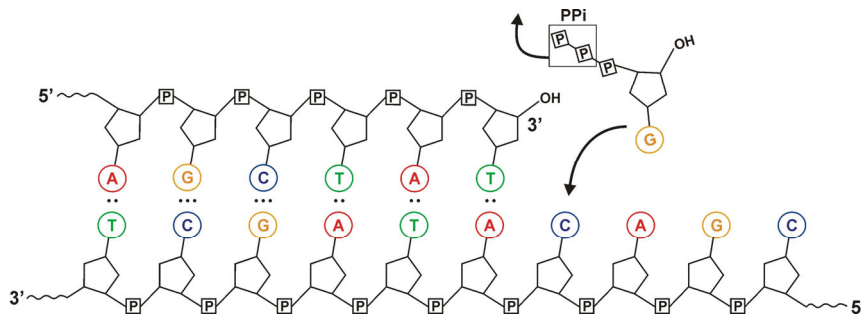


Рис. 1. Нуклеотидилтрансферазная (полимеразная) 5'→3'-активность ДНК-зависимых ДНК-полимераз.
Fig. 1. Enzymatic activity of DNA-dependent DNA polymerases. Nucleotidyltransferase (polymerase) activity.

ДНК-полимеразы с разной степенью эффективности катализируют также обратную реакцию пирофосфоролитического отщепления уже встроенного дНМФ с образованием дНТФ, что изображено на рис. 2. При высокой концентрации пирофосфата в реакционной смеси эта реакция становится более заметной.

Описываемые ниже экзонуклеазные активности не являются полноценно реверсивными по отношению к нуклеотидилтрансферазной, поскольку при полимеризации в реакцию вовлекается дНТФ и происходит выделение PPi, а в результате экзонуклеазного расщепления выделяется дНМФ.

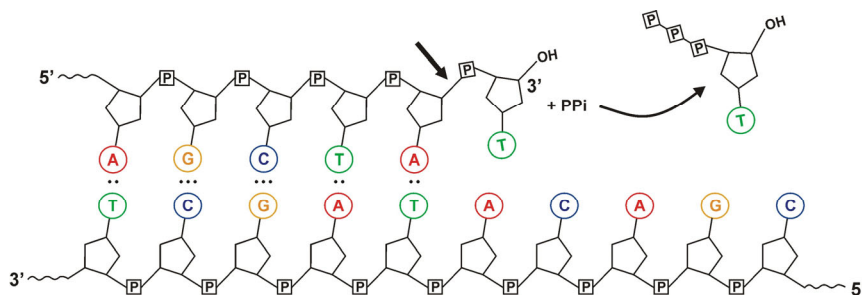


Рис. 2. Пирофосфоролитическая активность, катализируемая ДНК-зависимыми ДНК-полимеразами.
Fig. 2. Pyrophosphorolysis catalyzed by DNA-dependent DNA polymerases.

ДНК-полимеразы, помимо своей основной активности (и реверсного пирофосфоролита) обладают еще различными экзонуклеазными активностями, разрушающими цепи ДНК. Так, $3' \rightarrow 5'$ экзонуклеазная активность разрушает цепь ДНК в данном направлении, но полимеризующая активность у этих ферментов в направлении $5' \rightarrow 3'$ намного выше, поэтому при наличии в реакционной смеси дНТФ её проявление практически незаметно. Но если будут отсутствовать, например, все дНТФ кроме ТТФ, то фермент за счет данной экзонуклеазной активности будет удалять азотистые основания с $3'$ -конца пока не дойдет до того места, против которого нужно

встраивать именно ТМФ, что как раз показано на рис. 3А. Причем такое действие ДНК-полимеразы часто используют для того, чтобы укоротить одну из цепей ДНК на нужное количество нуклеотидов. Эту $3' \rightarrow 5'$ экзонуклеазную активность называют еще редактирующей, поскольку она отвечает за точность встраивания очередного нуклеотида. И если он оказывается некомплементарным, то будет удален, что видно из рис. 3В. Но каким образом ДНК-полимераза узнает в этом случае имеющее место неспаривание - отдельный вопрос, и здесь его касаться не будем.

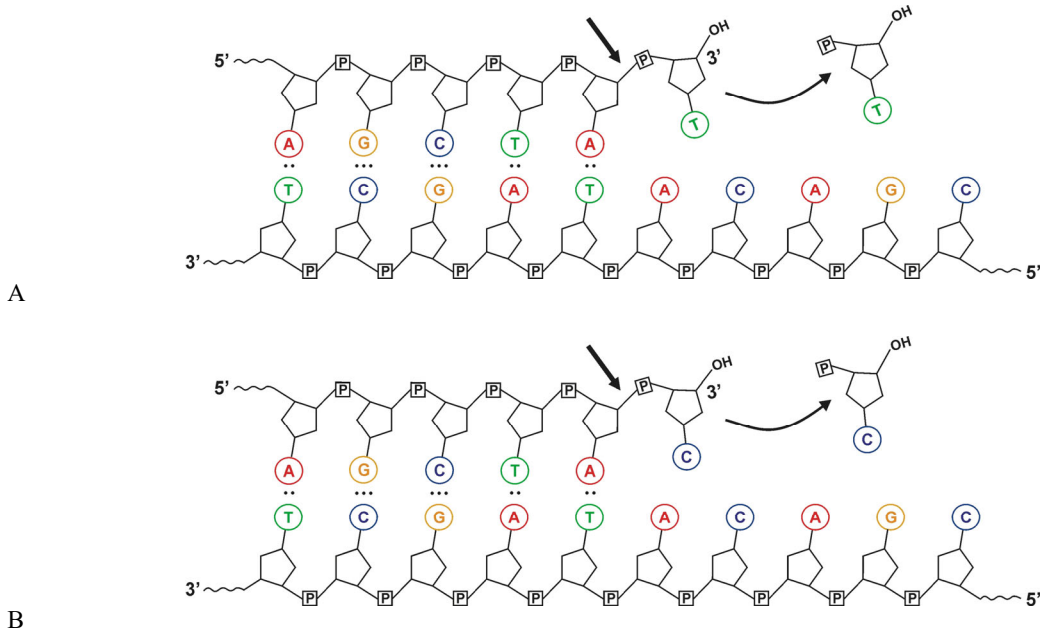


Рис. 3. А. $3' \rightarrow 5'$ -экзонуклеазная активность ДНК-зависимых ДНК-полимераз.
 В. Редактирующая $3' \rightarrow 5'$ -экзонуклеазная активность
 Fig. 3. A. $3' \rightarrow 5'$ -exonuclease activity. B. Editing $3' \rightarrow 5'$ -exonuclease activity

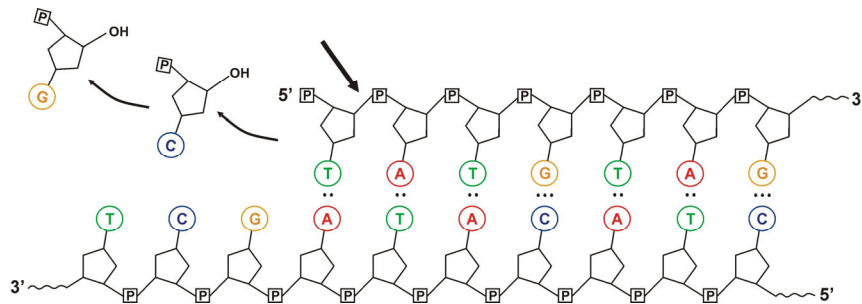


Рис. 4. $5' \rightarrow 3'$ -экзонуклеазная активность ДНК-зависимых ДНК-полимераз.
 Fig. 4. $5' \rightarrow 3'$ -exonuclease activity of DNA-dependent DNA polymerases.

ДНК-зависимые ДНК-полимеразы

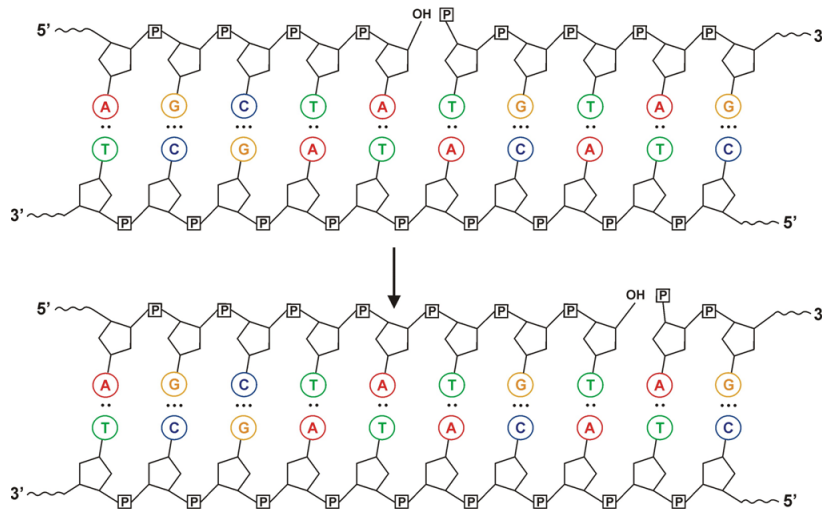


Рис. 5. Репарирующая 5'→3'-экзонуклеазная активность ДНК-зависимых ДНК-полимераз.
Fig. 5. Repairing 5'→3'-exonuclease activity of DNA-dependent DNA polymerases.

У некоторых ДНК-полимераз имеется еще 5'→3'-экзонуклеазная активность, удаляющая дНМФ с 5'-конца дуплексной ДНК, что показано на рис. 4. При этом происходит некоторое смещение разрушаемой цепи ДНК и об этой способности ДНК-полимераз речь пойдет дальше. Изображенную на рис. 5 5'→3'-экзонуклеазную активность ДНК-полимераз также называют репарирующей. Она стартует с образованного тем или иным способом

(или возникшему по какой-то причине) «ника» в виде разрыва одной из цепей ДНК, приводя в результате построения новой цепи к смещению этого «ника», что изображено на рис. 4. Чтобы остановить такое движение ДНК-полимеразы требуется лигирование цепи ДНК ферментом ДНК-лигазой. Эта 5'→3'-экзонуклеазная репарирующая реакция идет также с выделением дНМФ.

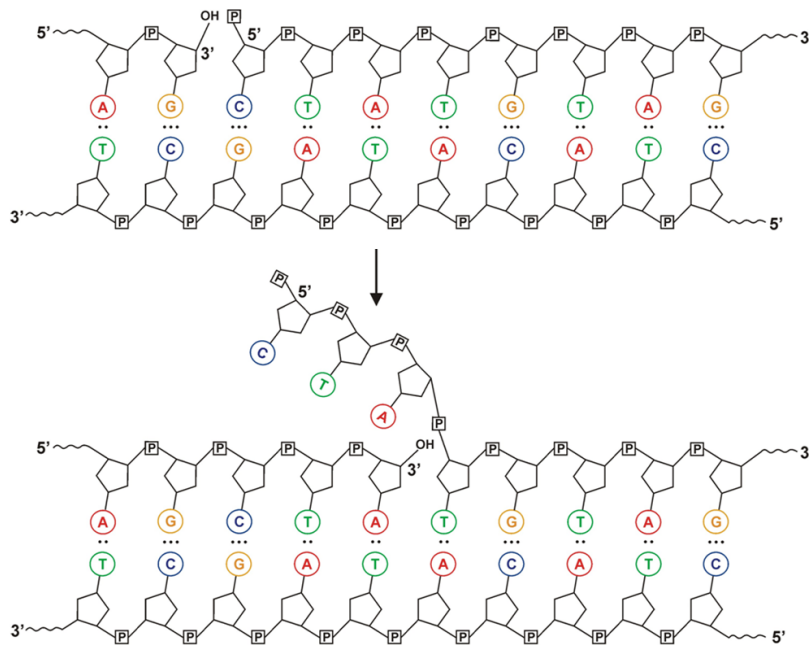


Рис. 6. Цепь-вытесняющая активность ДНК-зависимых ДНК-полимераз.
Fig. 6. Enzymatic activity of DNA-dependent DNA polymerases. Strand-displacement activity.

Некоторые ДНК-полимеразы обладают цепь-вытесняющей активностью (рис. 6). Они при полимеризации вытесняют встречающуюся им на пути комплементарную матрицу цепь ДНК. Фактически эту способность ДНК-полимераз можно считать неким видоизменением репарирующей экзонуклеазной активности, когда происходит не деградация старой цепи ДНК, а ее вытеснение без каких-либо нарушений нуклеотидной последовательности.

Классификация ДНК-полимераз

По мере обнаружения новых ДНК-полимераз и секвенирования их генов на основе выведенных для данных ферментов аминокислотных последовательностей

создавались их различные классификации, которые потом дополнялись и совершенствовались [Delarue et al., 1990; Ito, Braithwaite, 1991; Braithwaite, Ito, 1993]. В настоящее время принято считать, что существует семь семейств ДНК-полимераз, происходящих из всех ветвей Жизни – прокариот, архей, эукариот, а также от различных вирусов и органелл [Case, Hingorani, 2017]. Весьма детально различные ДНК-полимеразы из всех семейств рассмотрены в недавней работе отечественных авторов [Kuznetsova et al., 2022], тогда как наше внимание будет уделено всего двум семействам – А и В, и в первую очередь - термостабильным ферментам, используемым в ПЦР.

Таблица 1

Семейства ДНК-полимераз разных групп организмов, включая вирусы
Table 1. Families of DNA polymerases from different groups of organisms, including viruses

Домены Жизни Domains of Life	С е м е й с т в а / F a m i l i e s						
	A	B	C	D	X	Y	RT
Bacteria	I	II	III			IV V	
Archaea		B1 B3		D		Y	
Eukarya	γ θ	α δ ε ξ			Β σ λ μ TdT	η ι κ REV1	TERT
Virus*	T7	T4 phi29			ASFV		AMV MuMLV

* - неклеточная форма Жизни

Цветом выделены группы бактериальных и архейных ДНК-полимераз двух семейств, отдельные представители из которых являются основными ферментами в ПЦР.

С учетом значимости для всего Живого процесса репликации генетического материала и связанных с этим неких дополнительных, в том числе репарационных, рекомбинационных и прочих функций, Природа позаботилась о широком разнообразии ДНК-полимераз. В одной кишечной палочке насчитывают пять таких ферментов, принадлежащих к четырем семействам. В эукариотических организмах, включая человека, найдено уже 15 различных ДНК-полимераз с отличающимися функциями и относящихся также к четырем семействам [Burgers et al., 2001; Jain et al., 2018]. Однако в молекулярно-биологических экспериментах, и в ПЦР в частности, почти исключительно используется лишь ДНК-полимеразы из двух семейств, а именно бактериальные (из семейства А) и архейные (из семейства В).

Из семейства RT при проведении обратнотранскрипционной ПЦР оказываются задействованы вирусные РНК-зависимые ДНК-полимеразы (обратные транскриптазы), но им, как уже говорилось выше, должна быть посвящена самостоятельная статья. К тому же эти ферменты носят для ПЦР вспомогательный характер в отличии, например, от нативной Tth-полимеразы, в определенных условиях способной вовлекать в ПЦР молекулы РНК без использования вирусных ферментов AMV или MMLV.

Находит некоторое применение в ПЦР и в ряде других молекулярно-биологических экспериментов

называемая иногда ферментом Боллума и выделенная изначально из тимуса телят терминальная дезоксирибонуклеотидилтрансфераза (TdT) из X-семейства ДНК-полимераз, которой мы недавно посвятили обзорную статью [Гарафутдинов и др. (Garafutdinov et al.), 2025] в связи с 65-летием обнаружения этого фермента [Bollum, 1960], а также некоторого ренессанса TdT, нашедшей применение в ферментативном синтезе олигонуклеотидов, способном конкурировать (или дополнять) их химический синтез. Особенно перспективным такой подход может оказаться при синтезе протяженных олигонуклеотидов. При этом TdT является единственной ДНК-полимеразой, строящей новую цепь ДНК без использования матричной последовательности, отталкиваясь лишь от небольшой затравки, что делает ее абсолютно уникальным ферментом. Несколько удивительно, что Нобелевский комитет оставил без внимания открытие этого фермента, присудив Премии за открытие Корнбергом ДНК-полимеразы и С.Очоа полинуклеотидфосфорилазы, хотя нужно признать, что значимость TdT для живых эукариотических организмов тогда была абсолютно непонятной и оставалась таковой больше десятилетия. При этом сейчас у этого фермента намечается огромное будущее при его использовании в синтетической биологии.

Еще более уникальными следует считать РНК-полимеразы из суперсемейства Thg1/TLP, катализирующие рост цепи РНК в «обратном» направлении ($3' \rightarrow 5'$), отличаясь тем самым от всех остальных ДНК/РНК полимераз. Недавно продемонстрирована полимеризация в системе *in vitro* с помощью двух таких ферментов из разных источников по матрице РНК, встраивающих до 19 нуклеотидов, что, как отмечено авторами, потенциально может иметь применение в молекулярной биологии [Jayasinghe et al., 2024]. При этом можно предполагать, что какие-либо произведенные в будущем мутации этого фермента придадут ему новые возможности. Вспомнили здесь про эти РНК-зависимые РНК-полимеразы с необычным $3' \rightarrow 5'$ направлением синтеза с целью продемонстрировать общность происхождения практически всех ДНК/РНК полимераз, ведущих синтез в обоих направлениях, произошедших от некоей прото-полимеразы, о чем свидетельствует рассматриваемая ниже схожесть топологии этих ферментов.

Структурно-функциональная организация ДНК-полимераз

У всех подобных ферментов, ведущих полимеризацию полинуклеотидных цепей, нуклеотидилтрансферазный домен состоит из трех субдоменов: непосредственно «ладони» - Palm (P), четырех «пальцев» - Fingers (F) и «большого пальца» - Thumb (T). Каталитический центр фермента располагается на ладонной части P, а «пальцы» F и T,

сжимаясь, образуют некую полость (щель), через которую происходит транслокация молекулы ДНК во время синтеза. При этом Thg1/TLP РНК-полимеразы имеют такое же, но при этом зеркальное строение этой части своей белковой молекулы [Nakamura et al., 2013]. Это значит, что когда-то, в ходе еще додарвиновской химической эволюции биополимеров, произошла трансверсия участка ДНК, кодирующего каталитический домен данного фермента, и он оказался способен принимать субстрат и матрицу с затравкой с противоположной стороны. Хотя с учетом того, что поначалу мир на Планете был РНКовым, можно допустить, что полимеризация в «обратном» направлении ($3' \rightarrow 5'$) является более архаичной, а её реверс произошёл позднее.

Эти знания структурно-функциональной организации ДНК-полимераз стали известными благодаря клонированию и секвенированию кодирующих их генов, а также благодаря рентгеноструктурному анализу закристаллизованных белков, в том числе с молекулами ДНК и различными субстратами. Но это требует отдельного рассмотрения, тогда как здесь ограничимся лишь изображением некоей условной ДНК-полимеразы в виде линейной последовательности, из которой будет видно расположение в данном белке ферментативных активностей. Необходимо отметить, что общая длина большинства ДНК полимераз с обеими экзонуклеазными активностями составляет немногим более 800 аминокислотных остатков.

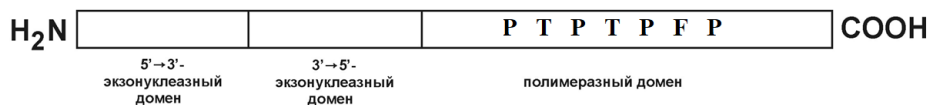


Рис. 7. Принципиальная схема локализации полимеразного и экзонуклеазных доменов в ДНК-зависимых ДНК-полимеразах. Масштаб приблизительный.

Fig. 7. Schematic diagram of localization of polymerase and exonuclease domains in DNA-dependent DNA polymerases. The scale is approximate.







Как можно видеть из рис. 7, у ДНК-полимераз экзонуклеазные активности располагаются на N-конце белка (с редкими исключениями порядка их локализации в белковой молекуле), а полимеразная активность расположена на C-конце белка, что, возможно, имеет определенный эволюционный смысл.

На рис. 1 - 6 изображены ферментативные активности, присущие различным ДНК-полимеразам, но без указания их принадлежности к тем или иным ферментам. Как уже говорилось выше, некоторые ДНК-полимеразы, помимо основного домена с нуклеотидилтрансферазной активностью, обладают одним или двумя экзонуклеазными функциональными доменами. А генно-инженерные ферменты бывают лишены обеих экзонуклеазных активностей, что

можно видеть из рис. 8, где они схематично изображены с использованием соответствующих символов. Там же приведены типовые для них ДНК-полимеразы из разных семейств этих ферментов, включая созданные искусственно.

Из рис. 8 видно, что ДНК-зависимые ДНК-полимеразы, включая генно-инженерные, характеризуются большим разнообразием своих ферментативных действий², и это находит применение при проведении различных молекулярно-биологических экспериментов.

² пирофосфоролиз здесь оставляем без внимания, хотя его можно даже рассматривать как некую альтернативу $3' \rightarrow 5'$ -экзонуклеазной редактирующей активности у ферментов, которые её лишены

ДНК-полимераза с 5'→3'- и 3'→5'-эксонуклеазными активностями		ДНК-полимераза I <i>E.coli</i> (A)
ДНК-полимераза с 3'→5'-эксонуклеазной активностью		KF (A), Pfu (B)
ДНК-полимераза с 5'→3'-эксонуклеазной активностью		Taq (A), Tth (A)
ДНК-полимераза без эксонуклеазных активностей		KF exo ⁻ (A), KlenTaq (A)
ДНК-полимераза с цепь-сдвигающей активностью		Bst 2.0 (A), Vent exo ⁻ (B)
ДНК-полимераза с цепь-сдвигающей активностью и 5'→3'-эксонуклеазной активностью		Bst (A), Vent (B), Phi29 (B)

KF – Кленовский фрагмент ДНК-полимеразы I *E.coli*

Pfu – ДНК-полимераза термофильной археи *Pyrococcus furiosus*

Taq – ДНК-полимераза термофильной эубактерии *Thermus aquaticus*

Tth – ДНК-полимераза термофильной эубактерии *T. thermophilus*

KlenTaq – генно-инженерная ДНК-полимераза *T.aquaticus*, лишённая 5'→3'-эксонуклеазной активности

Bst – ДНК-полимераза *Geobacillus (Bacillus) stearothermophilus*

Vent – ДНК-полимераза термофильной археи *Thermococcus litoralis*

Phi29 – ДНК-полимераза бактериофага φ29 *Bacillus subtilis*

Рис. 8. Типы различных ДНК-зависимых ДНК-полимераз, ведущих полимеризацию цепи ДНК в направлении 5'→3' и некоторые соответствующие им типовые ферменты. В скобках приведены семейства этих ДНК-полимераз. «Выемки» в «шаре-полимеразе» символизируют разные эксонуклеазные активности, а «выступ» - цепь-вытесняющую активность.

Fig. 8. Types of various DNA-dependent DNA polymerases extending of the DNA chain in the 5'→3' direction and some typical enzymes corresponding to them. The families of these DNA polymerases are shown in parentheses. The “recesses” in the polymerase “ball” symbolize different exonuclease activities, and the “protrusion” is a strand-displacement activity.

В разных вариантах ПЦР используются термостабильные ДНК-полимеразы с 5'→3'-эксонуклеазной активностью (в частности, для детекции наработки ампликонов в реальном времени с помощью системы TaqMan), с 3'→5'-эксонуклеазной редактирующей активностью (для повышения точности копирования, например для создания генно-инженерных конструкций), а также с отсутствием обеих эксонуклеазных активностей. Подобные ферменты могут использоваться и в обычной ПЦР, когда нет каких-то особых требований к нарабатываемым ампликонам и особенностям их детекции.

Что касается особенностей проявления нуклеотидилтрансферазной активности у разных ДНК-полимераз при проведении ПЦР, то они довольно сильно различаются. И это можно видеть даже для одного и того же фермента в разных публикациях, что вполне объяснимо используемыми авторами неодинаковыми составами буферов, неодинаковой амплифицируемой ДНК, ее отличающимся GC-составом, включая возможное наличие в ней примесей в виде ингибиторов полимеризации, используемых праймеров, от которых многое зависит, а также степенью очистки ферментов. Поэтому при необходимости следует по этим

моментам обращаться к оригинальным статьям, а также к рекомендациям производителей конкретных ферментов.

Все же в целом можно сказать, что точность копирования цепей ДНК при их синтезе у разных ферментов далеко неодинакова, даже безотносительно наличия или отсутствия редактирующей эксонуклеазной активности. Такой показатель полимеризующей активности термостабильных ДНК-полимераз как их процессивность, в целом отражающая важные свойства того или иного фермента, может меняться в широких пределах, что зависит от условий реакции и чистоты выделенной ДНК. К тому же некоторые в норме ДНК-зависимые ДНК-полимеразы из термофильных микроорганизмов в определенных условиях способны проявляют иную матричную активность, становясь в частности РНК-зависимыми ДНК-полимеразами. Несмотря на то что используемые в ПЦР ДНК-полимеразы называются термостабильными, по этому показателю они довольно сильно отличаются друг от друга, и для особых случаев амплификации (например, длинных и GC-богатых матриц) это надо учитывать. При этом археи обычно обладают более термостабильными ДНК-полимеразами, поскольку растут некоторые при 100°C и даже выше. Однако все эти моменты

являются предметами отдельных статей, часть из которых выйдет в данном номере журнала.

Заключение

Как показано выше, ДНК-зависимые ДНК-полимеразы являются многофункциональными белками, и помимо полимеризующей активности выступают как экзонуклеазы, имея 3'→5'-редактирующую и 5'→3'-репарирующую активности, за которые отвечают соответствующие домены этих белков. В ПЦР находят применение ДНК-полимеразы из двух семейств этих ферментов - бактериальные (из семейства А) и архейные (из семейства В), причем последние обычно несут 3'→5'-редактирующую экзонуклеазную активность, обеспечивая при этом увеличенную точность репликации с меньшим числом ошибок. Измененные генно-инженерным

путем как эубактериальные, так и архейные термостабильные ДНК-полимеразы, а также их химерные формы, обладают разными улучшенными характеристиками при проведении молекулярно-биологических экспериментов, включая амплификацию целей ДНК, в том числе по матрице из молекул РНК, но всем им должны быть посвящены отдельные публикации.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию: 16.03.2026 г.

Доработана после рецензирования: 20.04.2026 г.

Принята к публикации: 23.04.2026 г.

Литература

1. Гарафутдинов Р.Р., Никоноров Ю.М., Сахабутдинова А.Р. и др. Ферментативный синтез олигонуклеотидов. *Biotics*. 2025. 17(4). 337-351. doi: 10.31301/2221-6197.bmcs.2025-30
2. Bessman MJ, Lehman IR, Simms ES et al. Enzymatic synthesis of deoxyribonucleic acid. II. General properties of the reaction. *J Biol Chem*. 1958. 233(1). 171-177. doi: 10.1016/S0021-9258(19)68049-X
3. Braithwaite DK, Ito J. Compilation, alignment, and phylogenetic relationships of DNA polymerases. *Nucleic Acids Res*. 1993. 21(4). 787-802. doi: 10.1093/nar/21.4.787
4. Bollum FJ. Calf thymus polymerase. *J Biol Chem*. 1960. 235(8). 2399-2403. doi: 10.1016/S0021-9258(18)64634-4
5. Burgers PM, Koonin EV, Bruford E et al. Eukaryotic DNA polymerases: proposal for a revised nomenclature. *J Biol Chem*. 2001. 276(47). 43487-43490. doi: 10.1074/jbc.R100056200
6. Case BC, Hingorani MM. Polymerase. In: Reference Module in Life Sciences, Elsevier, 2017. doi: 10.1016/B978-0-12-809633-8.06928-4
7. Delarue M, Poch O, Tordo N et al. An attempt to unify the structure of polymerases. *Protein Eng*. 1990. 3(6). 461-467. doi: 10.1093/protein/3.6.461
8. Ito J, Braithwaite DK. Compilation and alignment of DNA polymerase sequences. *Nucleic Acids Res*. 1991. 19(15). 4045-4057. doi: 10.1093/nar/19.15.4045
9. Jain R, Aggarwal AK, Rechkoblit O. Eukaryotic DNA polymerases. *Curr Opin Struct Biol*. 2018. 53. 77-87. doi: 10.1016/j.sbi.2018.06.003
10. Jayasinghe MI, Patel KJ, Jackman JE. Thg1 family 3'-5' RNA polymerases as tools for targeted RNA synthesis. *RNA*. 2024. 30(10). 1315-1327. doi: 10.1261/rna.080156.124
11. 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
12. 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
13. Klenow H, Overgaard-Hansen K. Proteolytic cleavage of DNA polymerase from *Escherichia coli* B into an exonuclease unit and a polymerase unit. *FEBS Lett*. 1970. 6(1). 25-27. doi: 10.1016/0014-5793(70)80032-1
14. Kornberg A, Lehman LR, Simms ES. Polydesoxyribonucleotide synthesis by enzymes from *Escherichia coli*. *Federation Proceedings*. 1956. 15(1). 291-292.
15. Kuznetsova AA, Fedorova OS, Kuznetsov NA. Structural and Molecular Kinetic Features of Activities of DNA Polymerases. *Int J Mol Sci*. 2022. 23(12). 6373. doi: 10.3390/ijms23126373
16. Lehman IR, Bessman MJ, Simms ES et al. A. Enzymatic synthesis of deoxyribonucleic acid. I. Preparation of substrates and partial purification of an enzyme from *Escherichia coli*. *J Biol Chem*. 1958. 233(1). 163-170. doi: 10.1016/S0021-9258(19)68048-8
17. Nakamura A, Nemoto T, Heinemann IU et al. Structural basis of reverse nucleotide polymerization. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013. 110(52). 20970-20975. doi: 10.1073/pnas.1321312111
18. Ollis DL, Brick P, Hamlin R et al. Structure of large fragment of *Escherichia coli* DNA polymerase I complexed with dTMP. *Nature*. 1985. 313(6005). 762-726. doi: 10.1038/313762a0

References

1. Bessman MJ, Lehman IR, Simms ES et al. Enzymatic synthesis of deoxyribonucleic acid. II. General properties of the reaction. *J Biol Chem.* 1958. 233(1). 171-177. doi: 10.1016/S0021-9258(19)68049-X
2. Braithwaite DK, Ito J. Compilation, alignment, and phylogenetic relationships of DNA polymerases. *Nucleic Acids Res.* 1993. 21(4). 787-802. doi: 10.1093/nar/21.4.787
3. Bollum FJ. Calf thymus polymerase. *J Biol Chem.* 1960. 235(8). 2399-2403. doi: 10.1016/S0021-9258(18)64634-4
4. Burgers PM, Koonin EV, Bruford E et al. Eukaryotic DNA polymerases: proposal for a revised nomenclature. *J Biol Chem.* 2001. 276(47). 43487-43490. doi: 10.1074/jbc.R100056200
5. Case BC, Hingorani MM. Polymerase. In: Reference Module in Life Sciences, Elsevier, 2017. doi: 10.1016/B978-0-12-809633-8.06928-4
6. Delarue M, Poch O, Tordo N et al. An attempt to unify the structure of polymerases. *Protein Eng.* 1990. 3(6). 461-467. doi: 10.1093/protein/3.6.461
7. Garafutdinov RR, Nikonov YuM, Sakhabutdinova AR et al. Enzymatic synthesis of oligonucleotides. *Biomics.* 2025. 17(4). 337-351. doi: 10.31301/2221-6197.bmcs.2025-30 (In Russian)
8. Ito J, Braithwaite DK. Compilation and alignment of DNA polymerase sequences. *Nucleic Acids Res.* 1991. 19(15). 4045-4057. doi: 10.1093/nar/19.15.4045
9. Jain R, Aggarwal AK, Rechkoblit O. Eukaryotic DNA polymerases. *Curr Opin Struct Biol.* 2018. 53. 77-87. doi: 10.1016/j.sbi.2018.06.003
10. Jayasinghe MI, Patel KJ, Jackman JE. Thg1 family 3'-5' RNA polymerases as tools for targeted RNA synthesis. *RNA.* 2024. 30(10). 1315-1327. doi: 10.1261/rna.080156.124
11. 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
12. 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
13. Klenow H, Overgaard-Hansen K. Proteolytic cleavage of DNA polymerase from *Escherichia coli* B into an exonuclease unit and a polymerase unit. *FEBS Lett.* 1970. 6(1). 25-27. doi: 10.1016/0014-5793(70)80032-1
14. Kornberg A, Lehman LR, Simms ES. Polydesoxyribonucleotide synthesis by enzymes from *Escherichia coli*. *Federation Proceedings.* 1956. 15(1). 291-292.
15. Kuznetsova AA, Fedorova OS, Kuznetsov NA. Structural and Molecular Kinetic Features of Activities of DNA Polymerases. *Int J Mol Sci.* 2022. 23(12). 6373. doi: 10.3390/ijms23126373
16. Lehman IR, Bessman MJ, Simms ES et al. A. Enzymatic synthesis of deoxyribonucleic acid. I. Preparation of substrates and partial purification of an enzyme from *Escherichia coli*. *J Biol Chem.* 1958. 233(1). 163-170. doi: 10.1016/S0021-9258(19)68048-8
17. Nakamura A, Nemoto T, Heinemann IU et al. Structural basis of reverse nucleotide polymerization. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013. 110(52). 20970-20975. doi: 10.1073/pnas.1321312111
18. Ollis DL, Brick P, Hamlin R et al. Structure of large fragment of *Escherichia coli* DNA polymerase I complexed with dTMP. *Nature.* 1985. 313(6005). 762-726. doi: 10.1038/313762a0