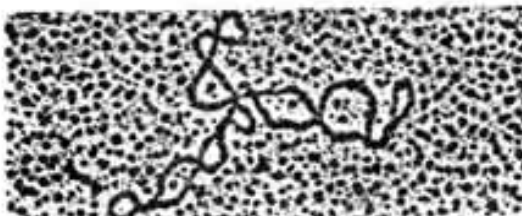
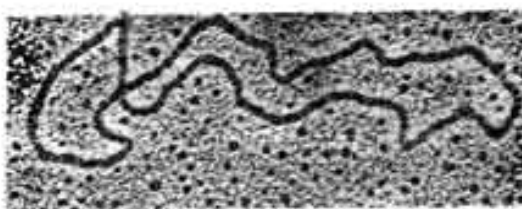
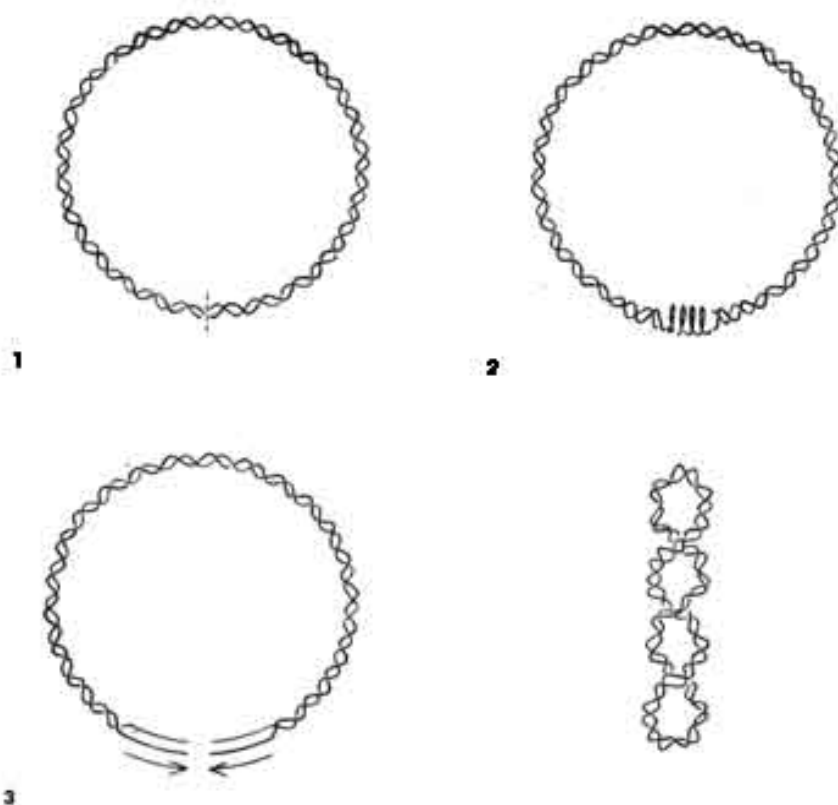


تشکیل ابر ماریج در مولکول های حلقوی DNA

DNA از انعطاف پذیری زیادی برخوردار است و شکل مولکولی آن به غلظت یونی محیط اطراف و وجود پروتئین های اختصاصی که با آن ترکیب می شوند بستگی دارد. در مولکول های DNA خطی به دلیل وجود انتهاهای آزاد، مولکول های فوق می توانند به دفعات به دور یکدیگر تاب بخورند و در این صورت تعداد دور در ماریج مضاعف تغییر می یابد ولی پس از اتصال انتهای DNA (حلقوی شدن) تعداد مطلق تابه های دو رشته نسبت به یکدیگر (عدد اتصال) ثابت باقی می ماند. تغییر در تعداد متوسط جفت بازهای موجود در هر دور ماریج مضاعف با ایجاد تعداد مناسب ابر ماریج در جهت مخالف تعدیل می شود. به هر حال با تاب خوردن ماریج مضاعف، ابر ماریج بوجود می آید. باز شدن تابه های ماریج مضاعف نیز ابر ماریج ایجاد می نماید. ولی این ابر ماریج که تاب آن در جهت مخالف گردش ماریج مضاعف (چپگرد) است را ابر ماریج منفی می نامند (شکل).





تشکیل ابر مارپیچ با قطع و اتصال مولکول *DNA*. در مولکول های *DNA* حلقوی تعداد دفعاتی که دو رشته به دور یکدیگر

تاب خورده اند (عدد اتصال) ثابت است. اگر هر دو زنجیره قطع شوند (1) و در جهت مخالف به دور یکدیگر تاب بخورند (2) و سپس

انتهای فوق به هم وصل شوند (3) ابر مارپیچ منفی تشکیل می شود (4). در قسمت پایین دو عکس الکترون میکروسکوپی از *DNA*

باکتریوفاژ *PM 2* نشان داده شده است. در عکس بالایی *DNA* در حالت استراحت (بدون ابر مارپیچ) و در عکس پائینی به صورت ابر

مارپیچ می باشد.

اگر جهت دورهای مارپیچ مضاعف و ابر مارپیچ یکی باشد (هر دو راستگرد) ابر مارپیچ حاصل مثبت خواهد

بود.

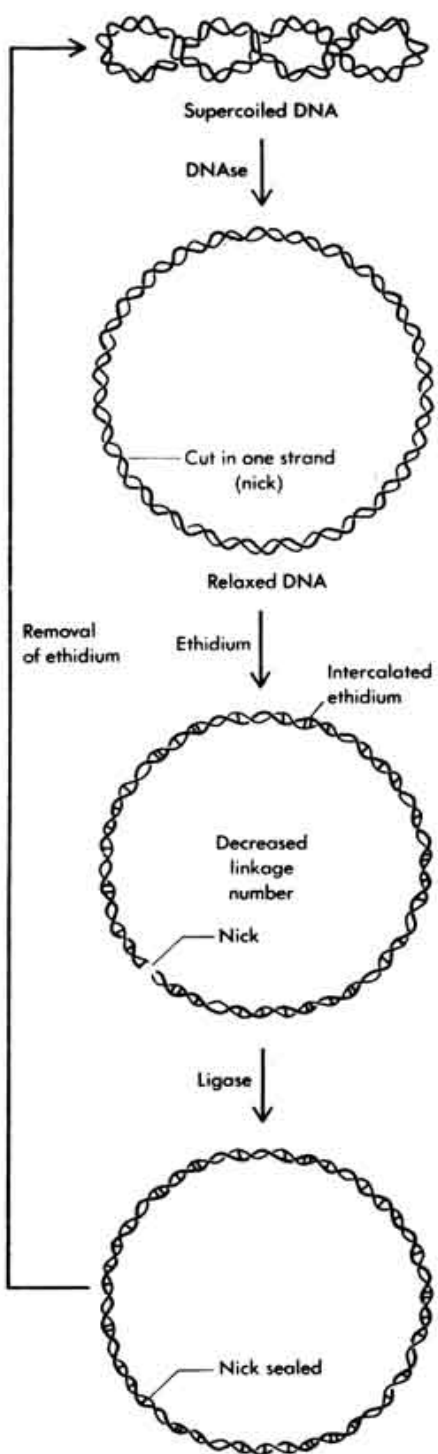
DNA ای که به صورت ابر مارپیچ است نسبت به حالت استراحت از پایداری کمتری برخوردار می باشد،

بنابراین چنانچه یکی از زنجیره های *DNA* ای که به صورت حلقوی ابر مارپیچ است را قطع نماییم، مولکول

بلافاصله به حالت استراحت بر می گردد (شکل).



Olympiad.roshd.ir



زیر نویس شکل: ایجاد شکاف در DNA و قرار دادن مواد انترکاله کننده می تواند ابر مارپیچ را به حالت استراحت یا برعکس تبدیل کند. با قطع یک زنجیره، مولکول DNA ای که به صورت ابر مارپیچ حلقوی است به حالت استراحت در می آید. اگر برمیداتیومیوم در مولکول DNA قرار گیرد، فاصله جفت بازها افزایش می یابد و این سبب باز شدن تاب مارپیچ مضاعف به اندازه 26 درجه به ازای

انترکاله شدن یک مولکول برومیداتیادیوم می شود. نتیجه چنین امری کاهش عدد اتصال است. آنزیم *DNA* لیگاز مجدداً انتهای آزاد را

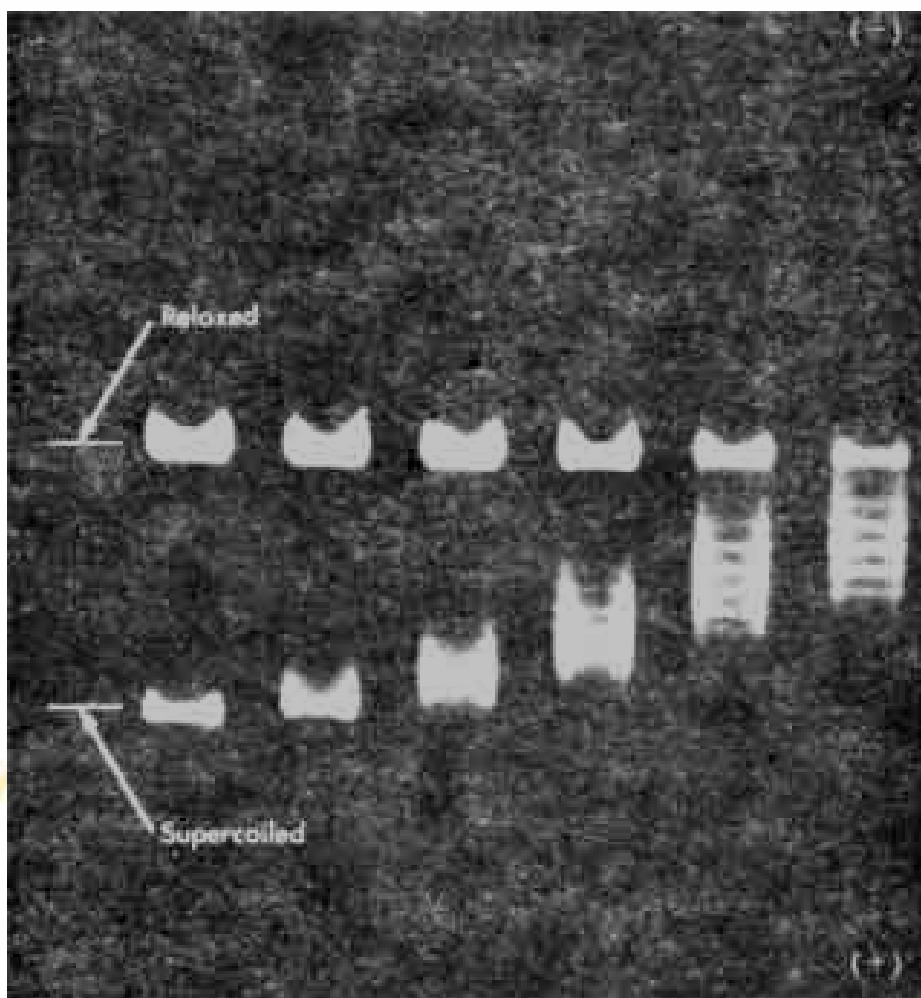
وصل می کند. با حذف برومیداتیادیوم مولکول *DNA* به صورت ابر مارپیچ منفی در می آید.

از آنجا که ابر مارپیچ های حلقوی ساختمان متراکمتری دارند، در صورت سانتریفوژ کردن با سرعت بیشتری

رسوب می نمایند و اگر در ژل آگاروز الکتروفورز شوند نیز با سرعت بیشتری حرکت می نمایند. در حال حاضر

بهترین راه سنجش میزان ابر مارپیچ در *DNA*، الکتروفورز بر روی ژل آگاروز است که به کمک آن می توان

مولکول هایی که اختلافشان تنها در مورد یک دور ابر مارپیچ است را نیز شناسایی کرد (شکل).



زیر نویس شکل: جداسازی ابر ماریچ و ماریچ مضاعف در حالت استراحت به کمک الکتروفورز روی ژل. هر چه تعداد دورهای ابر

ماریچ بیشتر باشد سرعت حرکت آن بر روی ژل بیشتر خواهد بود.

دنا توره شدن موضعی ابر ماریچ های DNA

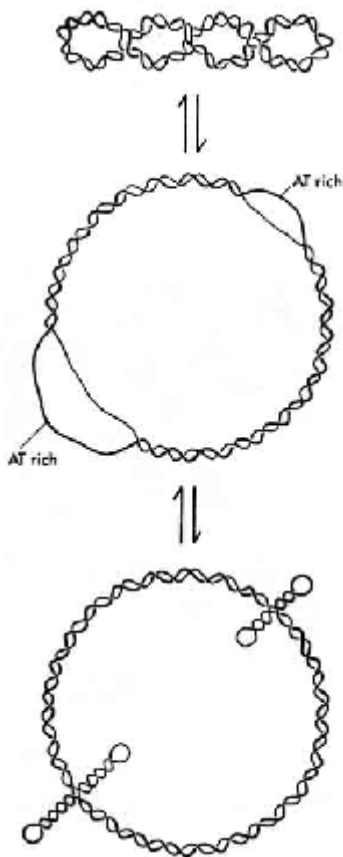
فشار موجود در ابر ماریچ منفی گاه منجر به دنا توره شدن موضعی ماریچی مضاعف می شود به عبارت

دیگر رشته های ماریچ از هم جدا می شوند. در چنین شرایطی انرژی حاصل از شکسته شدن پیوندهای هیدروژنی

جفت بازها کمتر از انرژی لازم جهت از بین بردن خمیدگی ماریچ مضاعف است (به عبارت دیگر احتمال از بین

رفتن خمیدگی ابر ماریچ کم می شود) مناطقی که بدین ترتیب دنا توره می شوند معمولاً غنی از جفت بازهای *A-T*

می باشند. مناطق غنی از جفت بازهای *GC* معمولاً جزء آخرین بخش هایی هستند که دنا توره می شوند (شکل).



زیر نویس شکل: در اثر دناتوره شدن جزئی مولکول DNA، ساختمان ابر مارپیچ ممکن است به ساختمان معمولی (حالت

استراحت) خود تبدیل گردد. نواحی غنی از AT برعکس نواحی غنی از GC معمولاً زودتر دناتوره می شوند زیرا از تعداد پیوندهای

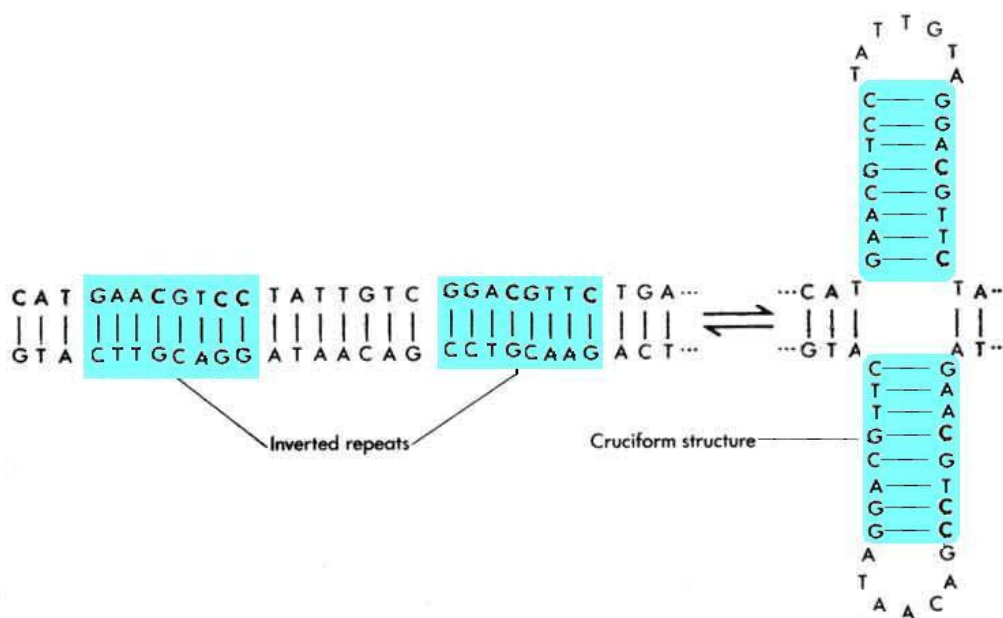
هیدروژنی کمتری برخوردار هستند. در قسمتهایی از زنجیره های تک رشته ای آزاد که بازها مکمل هستند امکان تشکیل پیوند هیدروژنی

و ایجاد اشکال سنجاق سری وجود دارد.

تشکیل مناطقی که به طور موضعی دناتوره شده اند خصوصاً در نواحی که زنجیره های تک رشته ای دارای

توالیهای مکمل خود باشند تقویت می شود. در این صورت در نواحی فوق اشکال سنجاق سری بوجود می آید که به

نام حلقه های صلیبی معروفند (شکل).

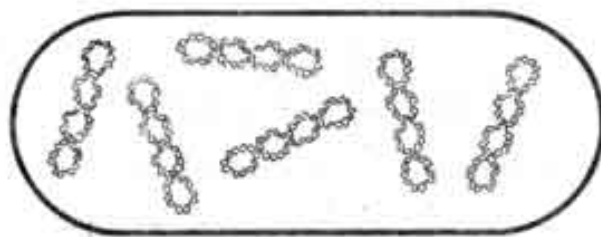


قسمتهایی از DNA که دارای توالیهای مکمل باشند (مانند آنچه در بالا نشان داده شده است) با تشکیل پیوندهای هیدروژنی

بین توالیهای تکراری معکوس خود می توانند حلقه های صلیبی شکل ایجاد نمایند.

در چنین شرایطی تعداد مطلق پیوندهای هیدروژنی تغییر زیادی نمی یابد و انرژی قابل توجهی که در نتیجه از بین رفتن یک یا دو تاب ابر مارپیچ حاصل می شود باعث ایجاد تعادل نهایی می گردد. به هر حال در مورد امکان وجود چنین اشکالی در سلول هنوز شک داریم برای مثال اگر *DNA* یک پلاسمید ابر مارپیچ که دارای یک توالی پالیندروم معکوس کامل 68 بازی است، با احتیاط و به آرامی از باکتری جدا شود، اشکال صلیبی شکل پایدار دیده نمی شود. عدم وجود اشکال صلیبی شکل را می توان به کمک آنزیم های محدود کننده نیز نشان داد. مثلاً درست در مرکز پالیندروم فوق توالی *GAATTC* وجود دارد که محل تشخیص آنزیم محدود کننده نیز نشان داد. مثلاً درست در مرکز پالیندروم فوق توالی وجود دارد که محل تشخیص آنزیم محدود کننده *EcoRI* است. اگر حلقه صلیبی شکل وجود می داشت باید جایگاه فوق در انتهای حلقه های سنجاق سری تک رشته ای قرار می گرفت و از آنجا که آنزیم های آندونوکلئاز تنها میتوانند بر روی *DNA* دو رشته ای اثر بگذارند *DNA* تک رشته ای فوق شکسته نمی شد ولی با توجه به اینکه آنزیم محدود کننده *EcoRI* می تواند سبب هیدرولیز (قطع) *DNA* گردد، میتوان نتیجه گرفت که اشکال صلیبی در پلاسمید فوق وجود ندارند (شکل).





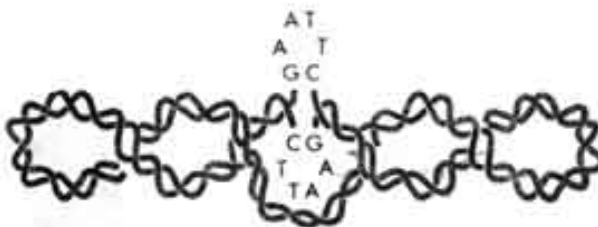
Bacterium with a multicopy plasmid having a perfect 68-base-pair inverted palindromic sequence with an *Eco* RI recognition site at the center of symmetry

Gentle lysis to prevent thermal rearrangement of supercoiled plasmid DNA



"Native" supercoiled plasmid with duplex *Eco* RI site that is susceptible to *Eco* RI cutting

Native structure rearranges into cruciform after partial denaturation by heating or treatment with phenol.



Single-stranded *Eco* RI recognition site is resistant to *Eco* RI digestion in cruciform structure

تشکیل حلقه های صلیبی شکل پایدار از توالیهای تکراری معکوس بنظر نمی رسد چنین اشکالی در سلول وجود داشته باشند.

بدین ترتیب از آنجا که کلیه *DNA* های فوق توسط آنزیم *EcoRI* قطع می شوند نتیجه گیری شد که ابر

مارپیچ *DNA* پلاسمید، حلقه های صلیبی پایدار تشکیل نمی دهد. ظاهراً در سلول باکتری نه انرژی حرارتی به

تنهایی و نه مجموعه عمل آنزیم های مختلف (مانند توپوایزومرازها و پروتئین هایی که به *DNA* تک رشته ای

متصل می شوند) نمی توانند به اندازه کافی جفت بازهای ابرمارپیچ را از هم جدا کنند تا امکان تشکیل حلقه های

صلیبی شکل بوجود آید. بنابراین با وجود آنکه آرایش فضائی حلقه های صلیبی شکل در بعضی ابرمارپیچ های

منفی از نظر انرژی پایداری زیادی دارد، معهذا حداقل در بعضی موارد از نظر جنبشی مطلوب نیستند. با تغییر فرم هر یک بازهای پورین - پیریمیدین متناوب DNA از آرایش B به Z ، ساختمان ابرمارپیچ منفی از بین می رود. وجود ابرمارپیچ ها تبدیل $B - DNA$ به $Z - DNA$ را در غلظت کمتر نمک امکان پذیر می سازد. همچنین وجود ابرمارپیچ ها سبب می شود که ایجاد $Z - DNA$ کمتر به متیلاسیون سیتوزین های خاصی نیاز داشته باشد.

