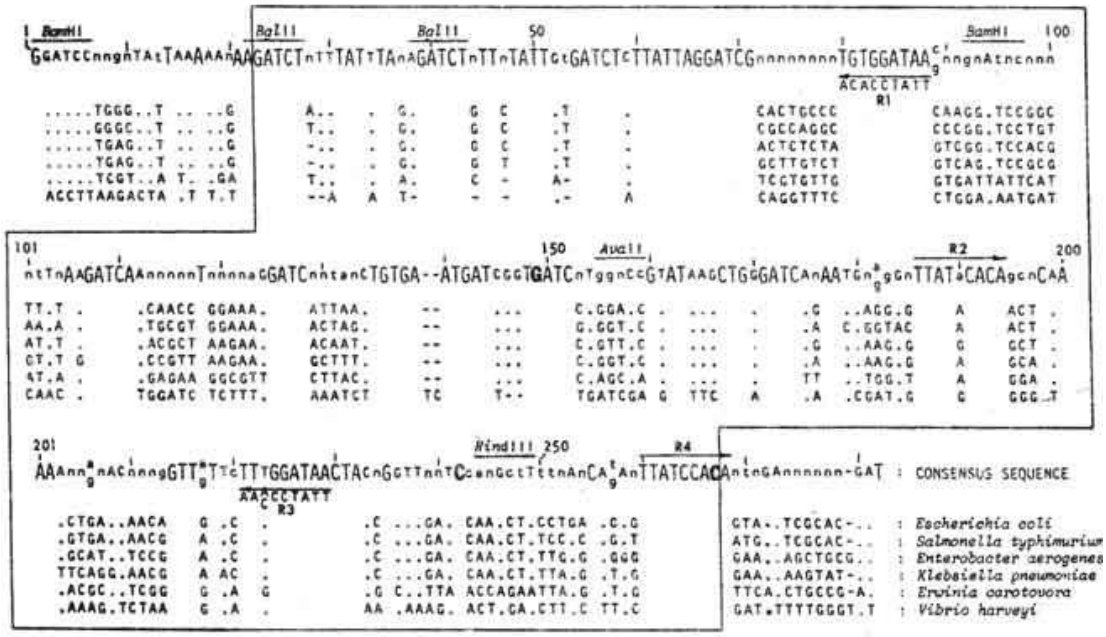
بوجود آمدن چنگال همانندسازی در مبدأهای همانندسازی

نقطه شروع همانندسازی با مبدأ قطعات اوکازاکی متفاوت است. مولکول هـای DNA ویروسـی و باکتری معمولاً تنها دارای یک مبدا هستند. طول DNA منطقه شروع را می‌توان بـا تکثیـر پلاسـمید F مشخص کرد چرا که اندازه‌اش مشخص است و محل دخول آن، ناحیه شروع می‌باشد. بدین ترتیب معلوم شده که طول مبدأ همانندسازی در سلول کلی‌باسیل ۲۵۴ جفت باز است (شکل زیر)، که بین ژن آنـزیم آسپاراژین سنتتاز و اپرون تنظیم ATP سنتتاز قرار دارد . جهش‌زایی در لوله آزمایش نشان داده اسـت که در این ناحیه تنها تعداد کمی از بازها نقش اساسی را ایفا می‌کنند و احتمالاً همین بازها هستند که به وسیله پروتئین‌هایی که در شروع ایجاد چنگال همانندسازی نقش دارند، شناخته می‌شوند.

مرحله اصلی در شروع همانندسازی، آغاز بیوسنتز رشته رهبر است. به محـض شـروع بیوسـنتز رشته فوق، سنتز رشته پیرو نیز به طریقی که قبلاً اشاره شد دنبال می‌شود. لازمه شروع بیوسنتز رشـته رهبر، فعالیت آنزیم RNA پلیمراز و رونویسی از روی قطعه کوتاهی از مبدأ است.

(شکل)



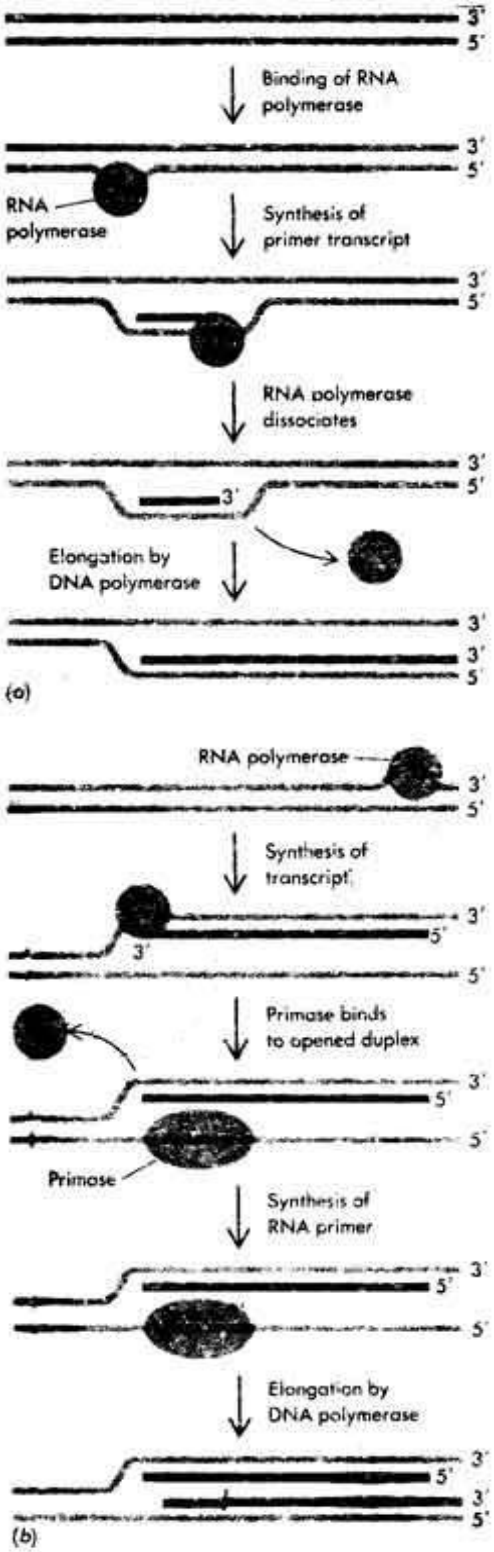
توالی نوکلئوتیدی غیر متغیر کوچکترین مبدا همانندسازی در کروموزوم‌های باکتریایی. حداقل طول مبدا در کلی‌باسیل در کادر شکل قرار داده شده است . حروف بزرگ موجود در کادر نشانه وجود بازهای مشترک در شش مبدأ فوق می‌باشند. حروف کوچک مربوط به بازهایی است که در ۵ مبدا فوق مشترک می‌باشند. حروفی که پایین‌تر نوشته شده‌اند مربوط به نوکلئوتیدهایی هستند که در ۳ یا ۴ مبدأ از شش مبدأ فوق مشترک می‌باشند و تنها دو نوکلئوتید متفاوت در جایگاه فوق وجود دارند. حرف n در جاهایی استفاده شده است که سه یا چهار نوکلئوتید از چهار نوکلئوتید ممکن و یا دو نوکلئوتید متفاوت و یک حذف در جایگاه فوق کشف شده است نقطه (.) نشانه ان است که نوکلئوتید در توالی باکتریایی کاملاً با توالی غیر متغیر مشابه است. حروف بزرگ پررنگ مربوط به جایگاههایی هستند که در اثر تعویض یک نوکلئوتید فنوتیپ *OriC* در کلی‌باسیل بروز می‌کنند. جایگاههای عمل انزیم‌های محدودکننده مشخص شده و پیکان نشان‌دهنده جایگاههای اتصال پروتئین *A* (*R4, R3, R2, R1*) می‌باشد.

در مورد بعضی از مبدأها (مثل نقطه شروع پلاسمید *ColE*) رشته‌های *RNA* می‌توانند به عنوان پرایمر رشته‌های رهبر عمل کنند و این عمل پس از هضم. قطعات غیرلازم به وسیله آنزیم *RNase H* (*H* نشانگر هیبرید است) صورت می‌گیرد. به هر حال قسمت اعظم این نسخه‌های *RNA* کوتاه د رمبدأ همانندسازی، نقش پرایمر را ایفا نمی‌کنند، بلکه بنظر می‌رسد که تنها عمل آنها جدا کردن دو رشته

DNA در محل فوق باشد. بدین ترتیب توالیهای اختصاصی را در معرض اتصال زیرواحدهای پریموزوم قرار می‌دهند (شکل زیر). این فرآیند به نام عمل فعال‌سازی رونویسی خوانده می‌شود.

صرف‌نظر از چگونگی سنتز قطعات RNA وجود آنها لزوماً به معنی شروع بیوسنتز DNA نمی‌باشد، چرا که معمولاً زنجیره‌های RNA بلافاصله از الگوهای خود جدا می‌شوند. از آنجا که اکثر RNAهای تازه سنتز شده از DNA جدا می‌گردند و مجدداً دو رشته DNA به یکدیگر متصل می‌شوند باید مولکول‌هایی وجود داشته باشند تا از چنان اتصال مجددی جلوگیری کنند. گفته می‌شود ممکن است این عمل در اثر اتصال آنها به مبداهای همانندسازی صورت گیرد.

شروع سنتز رشته رهبر اکثر اوقات به وجود یک یا چند پروتئین که تنها در مرحله شروع عمل می‌کنند نیاز دارد. از جمله این پروتئین‌ها می‌توان از $dnaA$ کلی‌باسیل و پروتئین O فاژ لامبدا نام برد. این پروتئین‌ها به چهار جایگاه اختصاصی کاملاً حفظ شده که هر یک از نه جفت باز آلی تشکیل شده‌اند متصل می‌گردند. به هر حال هنوز نحوه عمل هر یک از پروتئین‌های فوق مشخص نیست، ممکن است که اتصال آنها به DNA محیط مناسبی را برای تشکیل کمپلکس فعال هولوآنزیم DNA پلیمراز III (که خود از هفت جزء تشکیل شده است) بوجود آورد.



طرح دیگری از چگونگی عمل *RNA* پلیمراز در مبدا همانندسازی و نحوه ایجاد پرایمرها.*(a) RNA* پلی‌مراز یک قطعه *RNA* می‌سازد که پس از پردازش به وسیله *RnaseH* (در اینجا نشان داده نشده است) به عنوان پرایمر عمل می‌کند. *RNA(b)* ای که به وسیله *RNA* پلیمراز ساخته می‌شود سبب باز شدن مارپیچ مضاعف می‌گردد در نتیجه امکان اتصال پریموزوم که پرایمر واقعی را می‌سازد را فراهم می‌آورد.

همچنین هنوز معلوم نیست که چگونه شروع همانندسازی سبب سنتز DNA در دو جهت مختلف می‌گردد. گفته می‌شود که طویل شدن اولین قطعه اوکازاکی از انتهای $3'$ در رشته پیرو باعث عبور آن از مبدأ همانندسازی می‌گردد و در نتیجه خود به عنوان رشته رهبر در چنگال همانندسازی در جهت مخالف محسوب می‌شود. به هر حال اگر چنین پدیده‌ای امکان‌پذیر می‌بود، بنابراین همانندسازی همیشه در دوجهت صورت می‌گرفت در حالی که به ندرت همانندسازی در دو جهت انجام نمی‌شود. در مواردی که همانندسازی تنها در یک جهت انجام می‌گیرد میتوان تصور کرد که تنها یک آنزیم DNA پلیمراز III (رپلیزوم) معمولاً همانندسازی رشته رهبر و پیرو را همزمان بعهده دارد. به هر حال همانندسازی در جهت مخالف مستلزم وجود آنزیم DNA پلیمراز III دیگری است.