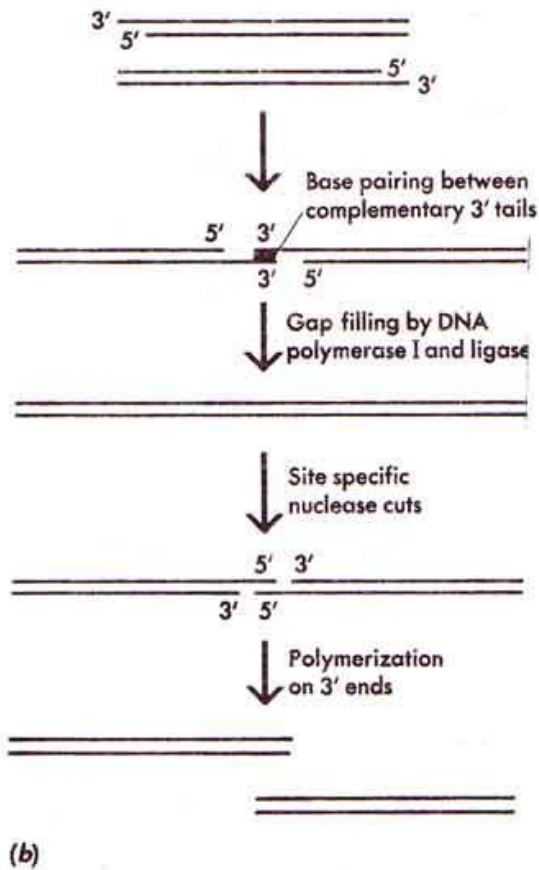
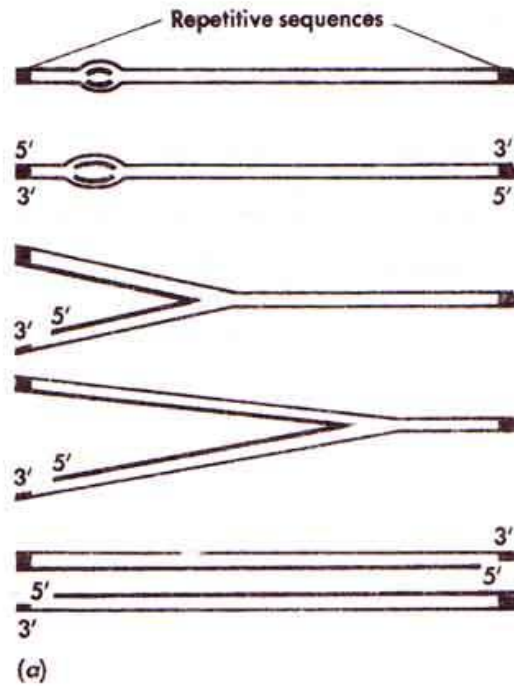


تکمیل انتهای مولکول‌های خطی *DNA*

با توجه به اینکه *RNA* های پرایمر باید از انتهای مولکول‌های *DNA* برداشته شوند، سؤال این است در این صورت انتهای *DNA* های خطی چگونه تکمیل می‌گردد. در هنگام همانندسازی نه تنها *RNA* پرایمر کوچک موجود در انتهای 3' باید برداشته شود، بلکه باید راهی وجود داشته باشد که جای خالی آن پرگردد. اولین بار چگونگی انجام این عمل در مولکول *DNA* فاز *T7* معلوم شد. نوکلئوتیدهای انتهایی این *DNA* به طور معمول جفت شده‌اند ولی انتهای فوق خاصیت بسیار جالبی دارند و آن اینکه در سمت راست مولکول ۱۶۰ جفت باز وجود دارد که عیناً در سمت چپ تکرار شده است. همچنین در هنگام همانندسازی مولکول‌های *T7* تولید شده از نظر طول با مولکول‌های والد برابر نیستند بلکه به صورت مولکول بسیار طولی هستند که از واحدهای تکراری تشکیل شده‌اند. بدین ترتیب که چندین مولکول انتها به انتها در امتداد یکدیگر قرار می‌گیرند و مجموعه طولی به نام کانکاتامر بوجود می‌آورند. به عبارت دیگر کانکاتامرها واجد چندین کپی تکراری از ژنوم کامل فاز می‌باشند.

علت تشکیل کانکاتامر در هنگام همانندسازی مولکول‌های خطی *DNA* این است که مولکول‌های *DNA* دختر کامل نیستند. بدین ترتیب که در هر رشته دختر تنها یک انتها به طور کامل همانندسازی می‌شود. اگر در انتهای مولکول‌های *DNA* ردیفهای تکراری وجود داشته باشند قسمتهای تکرار شده‌ای می‌توانند در کنار یکدیگر قرار گیرند و ساختمان مکمل بوجود آورند (شکل)

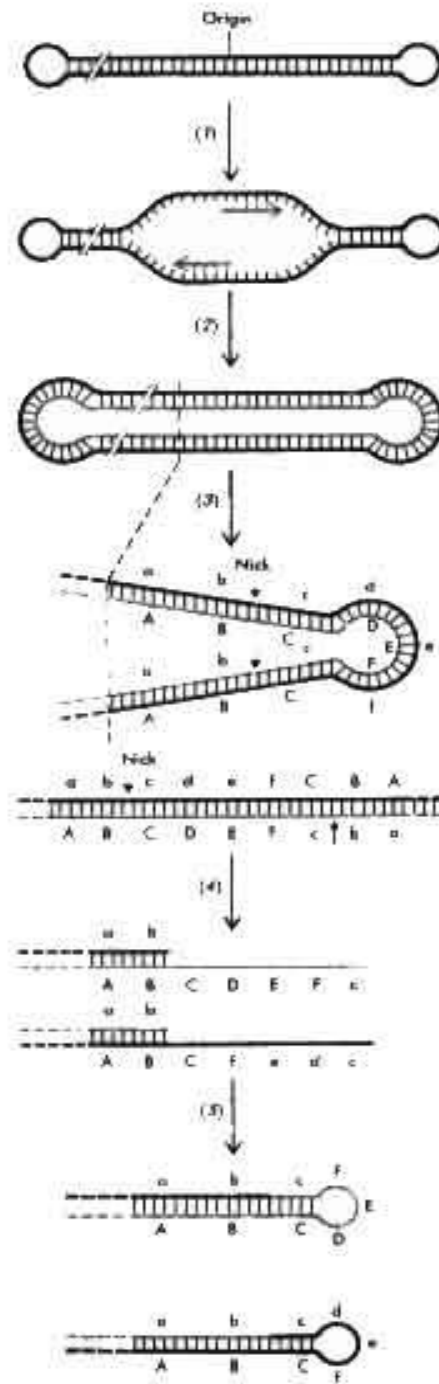


مدلی از همانندسازی مولکول DNA فاز T7 (a) انتهای 3' ابتدا به صورت ناقص همانندسازی می شود (b) و با تشکیل

کانکاتامر و انجام فعالیت DNA پلیمرز در جهت 3' → 5' همانندسازی تکمیل می گردد.

و کانکاتامری که از دو واحد *DNA* (برای مثال از دو مولکول *DNA* فاژ *T7*) تشکیل شده است را بوجود آورند. بعد از پر شدن فضای خالی و انجام عمل آنزیم لیگاز، مولکول دوتایی فوق دوباره همانندسازی می‌کند و پس از طی مراحل ذکر شده، کانکاتامری چهارواحدی بوجود می‌آید این عمل می‌تواند بارها تکرار شود. سپس هر واحد به وسیله آنزیم آندونوکلئاز بخصوصی از کانکاتامر جدا می‌شود. در محل عمل این آنزیم قسمتهای تک رشته‌ای بوجود می‌آیند (یعنی مکان قطع شده کاملاً صاف نیست). قسمتهای فوق توسط آنزیم *DNA* پلیمراز در جهت $3' \rightarrow 5'$ تکمیل می‌شود و مولکول نهایی به دست آمده کاملاً شبیه مولکول مادر خواهد بود.

راه دیگر حفظ انتهای کروموزوم‌های خطی در پاکس ویروس‌ها ملاحظه می‌شود. در این ویروس‌ها انتهاهای کروموزومی به شکل سنجاق سر در می‌آیند. همانندسازی مولکول فوق در نقطه شروع آغاز می‌شود و در دو جهت مخالف پیش می‌رود و قسمتهای سنجاقی شکل تک‌رشته‌ای را نیز می‌پوشاند. چگونگی تبدیل اشکال فوق به مولکول‌های دختری که ساختمان سنجاق سری تک‌رشته‌ای دارند، نامعلوم است. ممکن است آنزیم آندونوکلئاز در محل سنجاق سر دو رشته‌ای، انتهای چسبنده بوجود بیاورد و در اثر دناتورده شدن، دو زنجیره مکمل از یکدیگر جدا شوند. انتهای آزاد مجدداً اشکال سنجاق سری بوجود می‌آورند و با عمل آنزیم لیگاز سنجاقهای بسته جدید بوجود می‌آیند (شکل).

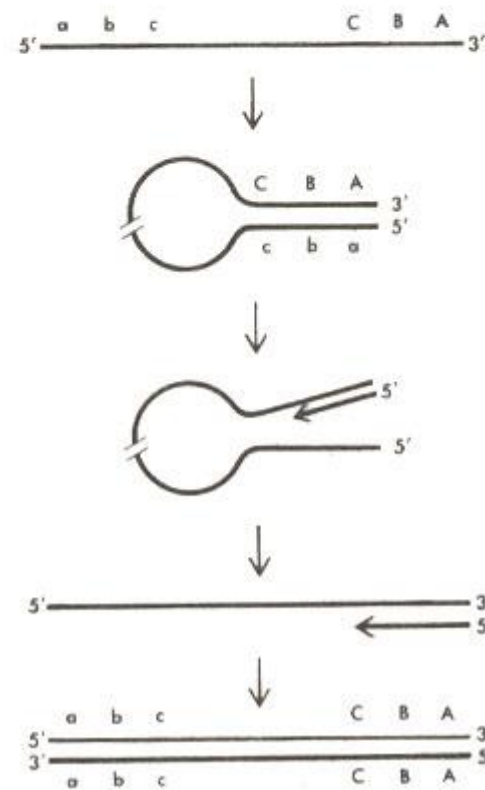
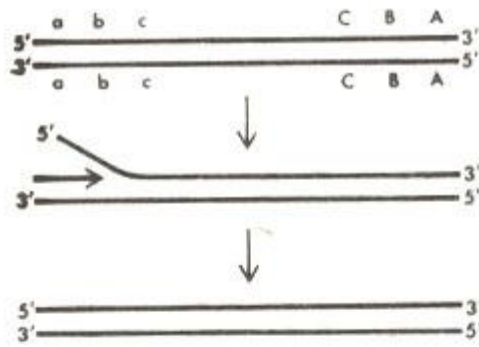


همانندسازی مولکول *DNA* ویروسی که انتهای آن به صورت سنجاق سر بسته شده است. همانندسازی در دو جهت مخالف یکدیگر آغاز می‌شود (۱) و مولکول تک‌رشته‌ای را به صورت مضاعف در می‌آورد (۲) آنزیم آندونوکلیاز دو انتهای چسبیده بوجود می‌آورد (۳) و مولکول‌های کامل دوباره به طور منظم کنار هم قرار گرفته و به هم وصل می‌شوند (۴ و ۵). از مرحله ۳ تا ۵ تنها نیمی از مولکول نشان داده شده است.

تکمیل انتهای کروموزوم‌های خطی سلول‌های یوکاریوتی نامعلوم است. هر یک از کروموزوم‌ها تنها از یک مولکول *DNA* ساخته شده است و شواهدی در دست نیست که نشان دهد مولکول‌های *DNA* در حین همانندسازی به یکدیگر متصل شوند. در ابتدا تصور می‌شد انتهای مولکول‌های فوق (که تلومر خوانده می‌شود) مانند *DNA* پاکس و ویروس‌ها به صورت سنجاق سر بسته باشد، ولی شواهد اخیر نشان داده‌اند که انتهای کروموزوم‌های یوکاریوتی به صورت فوق نیست و بر طبق فرضیه جدید آنزیم‌های پلیمراز، انتهای آزاد کروموزوم‌ها که در حین همانندسازی تکمیل نشده‌اند را کامل می‌کند. ترمیم انتهای کروموزوم‌ها برای اولین بار در کروموزوم کوچک سلول‌های یکی از آغازیان به نام تتراهیمنا (فصل‌های بعد) نشان داده شد. انتهای کروموزوم‌های فوق دارای بلوک‌های تکرار شونده:



است. تعداد بلوک‌های فوق بین ۳۰ تا ۷۰ در نوسان است. این نوسان دانشمندان را بر آن داشت که در جستجوی آنزیمی باشند که بلوک‌های $5' - TTGGGG 3'$ را به انتهای $3'$ ردیف‌های تکرار شده‌ای $5' - TTGGGG 3'$ اضافه می‌کند. هدف از عمل این آنزیم جلوگیری از کوتاه شدن مولکول *DNA*، به دلیل همانندسازی ناقص انتهایی می‌باشد. با اضافه شدن ردیف *TTGGGG* به انتهای $3'$ تلومر، بیوسنتز قسمت مکمل آن در $3' AACCCC 5'$ به وسیله آنزیم‌های پریماز عادی و از طریق تا شدن انتهای $3'$ توالی $5' TTGGGG 3'$ انجام می‌شود. ضمناً این عمل به وسیله پروتئین‌های پریماز اختصاصی نیز انجام می‌گردد (شکل).



مدلی از همانندسازی مولکول *DNA* خطی آدنوویروس‌ها و یا ۲۹ φ که نیاز به *RNA* پرایمر ندارد. همانندسازی می‌تواند از یکی از انتهایها شروع شود و فقط یک رشته به عنوان الگو قرار گیرد. مولکول تک رشته‌ای مادر پس از جدا شدن از الگو تشکیل آرایش سنجاق‌سری می‌دهد. ایجاد آرایش فوق به علت مکمل بودن انتهایهای مولکول تک رشته‌ای است. انتهای فوق سپس به عنوان الگو برای سنتز جدید از جهت 3' محسوب می‌شود.

جدا شدن کامل دو رشته حلقوی *DNA* مادر به وسیله آنزیمی مشابه توپوایزومراز

II انجام می‌گیرد

در مورد همانندسازی مولکولهای *DNA* حلقوی مسئله‌ای برای تکمیل انتهاها وجود ندارد و فضای

خالی حاصل از حذف پرایمرها با اضافه شدن نوکلئوتیدها به انتهای 3' پر می‌شود. وجود تعداد زیاد *DNA*

حلقوی در سلول ممکن است به دلیل سهولت سنتز آنها باشد.

همانندسازی در دو جهت مخالف در حلقه تا جایی که چنگالهای همانندسازی به یکدیگر برسند

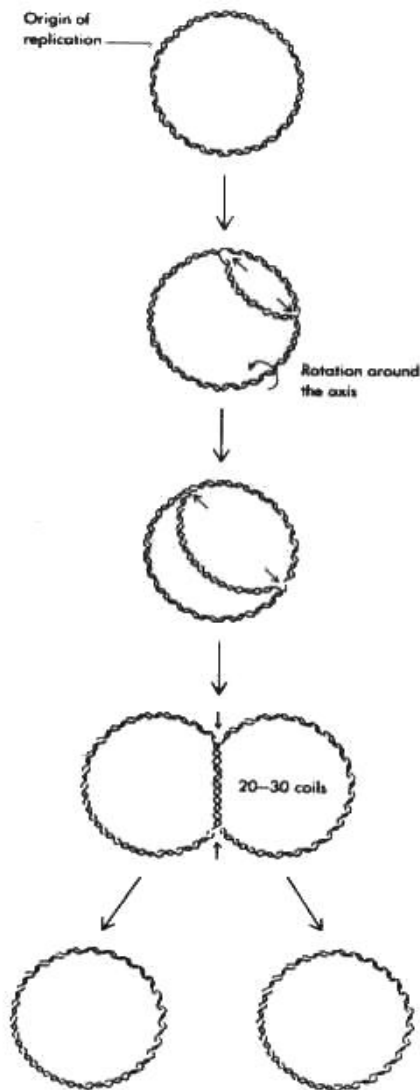
ادامه می‌یابد و معمولاً نقاط ختم و شروع همانندسازی در مقابل یکدیگر قرار گرفته‌اند (۱۸۰ درجه

اختلاف دارند). برای ختم توالی بخصوصی وجود ندارد، چرا که با حذف ناحیه‌ای که معمولاً چنگالهای

همانندسازی به یکدیگر می‌رسند صورت می‌گیرد. به هر حال جدا شدن دو مولکول *DNA* در

انتهای مرحله همانندسازی به طور خودبخود انجام نمی‌شود بلکه به دلیل آنکه در هنگام ختم

مولکول‌های دختر معمولاً بیست تا سی بار به دور یکدیگر تاب خورده‌اند (شکل).



شکل ساده‌ای از نحوه همانندسازی *DNA* حلقوی. همانندسازی در دو جهت مخالف انجام می‌گیرد و در زیر میکروسکوپ الکترونی تنها قسمت کوچکی از ناحیه در حال همانندسازی به صورت شکل فوق قابل رویت است. علت این امر این است که زنجیره‌های مادر به صورت ابرماریپیج هستند و تنها در هر لحظه قسمت کوچکی باز می‌شود و همانندسازی در آن صورت می‌گیرد.

جداسازی تنها با قطع هر دو رشته *DNA* مادری صورت می‌گیرد. آنزیم توپوایزومراز II قادر است

در لوله آزمایش دو مولکول *DNA* دختر که در هم تاب خورده‌اند را از هم جدا کند. احتمالاً آنزیم فوق

عملکرد مشابهی در سلول دارد.