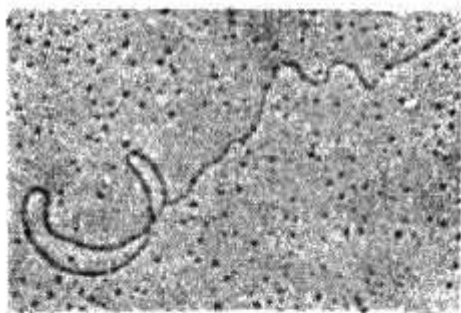


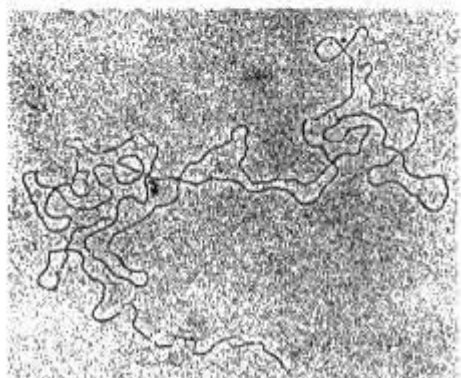
حلقه‌های چرخان روش دیگری برای همانندسازی مولکولهای DNA

حلقوی

مکانیسم دیگر همانندسازی مولکولهای DNA حلقوی چرخان است این روش در تکثیر DNA بسیاری از ویروس‌ها، فاکتور F (عامل باروری باکتری) در هنگام جفت‌گیری و همچنین در بعضی از موارد خاص تکثیر ژنی صورت می‌گیرد. در این روش همانندسازی با قطع یکی از رشته‌ها (رشته +) در محل شروع آغاز می‌شود. انتهای 5' از مارپیچ مضاعف جدا می‌گردد و سپس آنزیم DNA پلیمراز III به انتهای 3'، دزاکسی نوکلئوتیدها را اضافه می‌کند. با ادامه مراحل همانندسازی، انتهای 5' به صورت حلقه چرخانی در می‌آید (شکل 1) و پروتئین‌های SSB سطح آن را می‌پوشانند. به این ساختمان همانندسازی کننده حلقه چرخان گفته می‌شود، چرا که سنتز DNA تک‌رشته‌ای که به آن پروتئین‌های SSB متصل است، به همراه چرخش الگوی مارپیچ مضاعف حول محور آن صورت می‌گیرد. دوران فوق از لحاظ توپولوژیکی اشکالی بوجود نمی‌آورد، چرا که مولکول حلقوی تنها به وسیله یک رشته نگاه داشته شده است که آزادانه حول بسیاری از پیوندهای کووالانسی موجود در اسکلت خودپیچ می‌خورد.



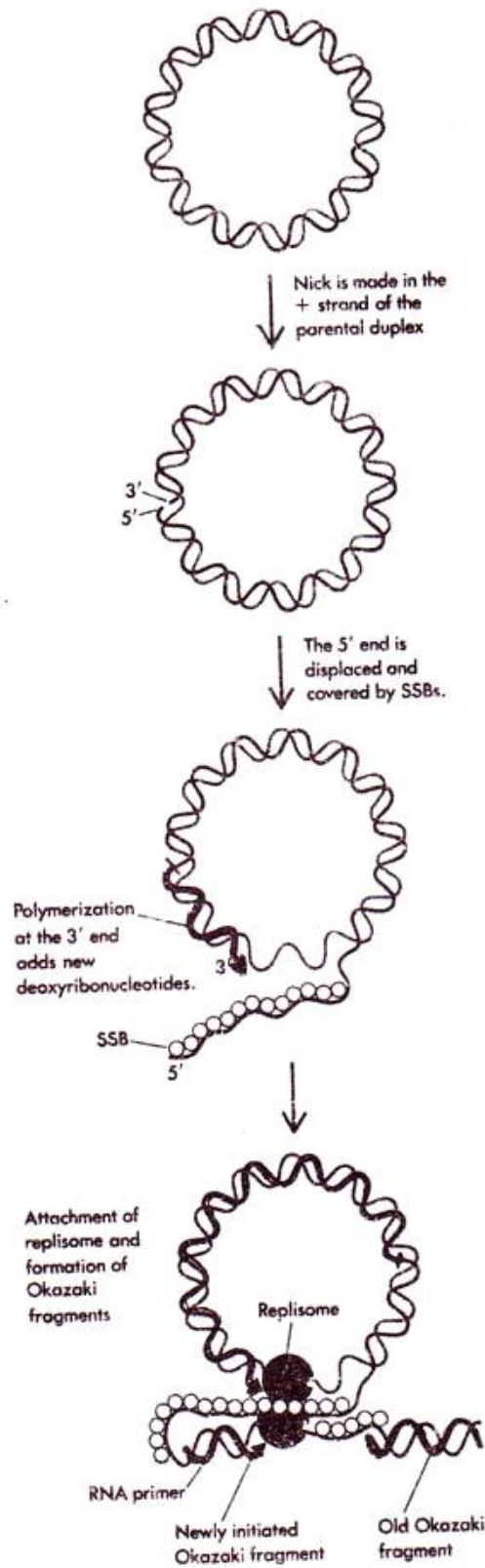
(a)



(b)

شکل (1) عکس الکترون میکروسکوپی مولکول حد واسطی که در حلقه چرخان تشکیل می‌شود. (a) ساختمان فوق در DNA تک‌رشته‌ای $\phi X 174$ و (b) همانندسازی مارپیچ مضاعف DNA فاز P2. در تصویر b از دنا توره نسبی جهت نشان دادن تشابه بین قطعات حلقوی و دمی استفاده شده است

چنانچه از مکانیسم حلقه چرخان در همانندسازی مولکول‌های حلقوی DNA استفاده شود،
 دمه‌های انتهای 5' با سرعت با تشکیل قطعات اوکازاکی به صورت مارپیچ مضاعف در می‌آیند. شروع سنتز
 قطعات فوق از پرایمرهای RNA ای که به وسیله مولکول‌های پریماز موجود در پریموزومها ساخته
 شده‌اند، انجام می‌شود. نیروی فعالی که باعث باز شدن دم 5' حلقه چرخان می‌گردد، احتمالاً مربوط به
 واکنش پلیمریزه شدن انتهای 3' نیست، بلکه مربوط به حرکت کمپلکس پریموزوم - *Pol III* (رپلیزوم)
 و اجزاء هلیکاز آن است (شکل 2).



شکل (۲) همانندسازی مولکول حلقوی *DNA* به وسیله مکانیسم حلقه چرخان. نیروی فعالی که سبب باز کردن دم

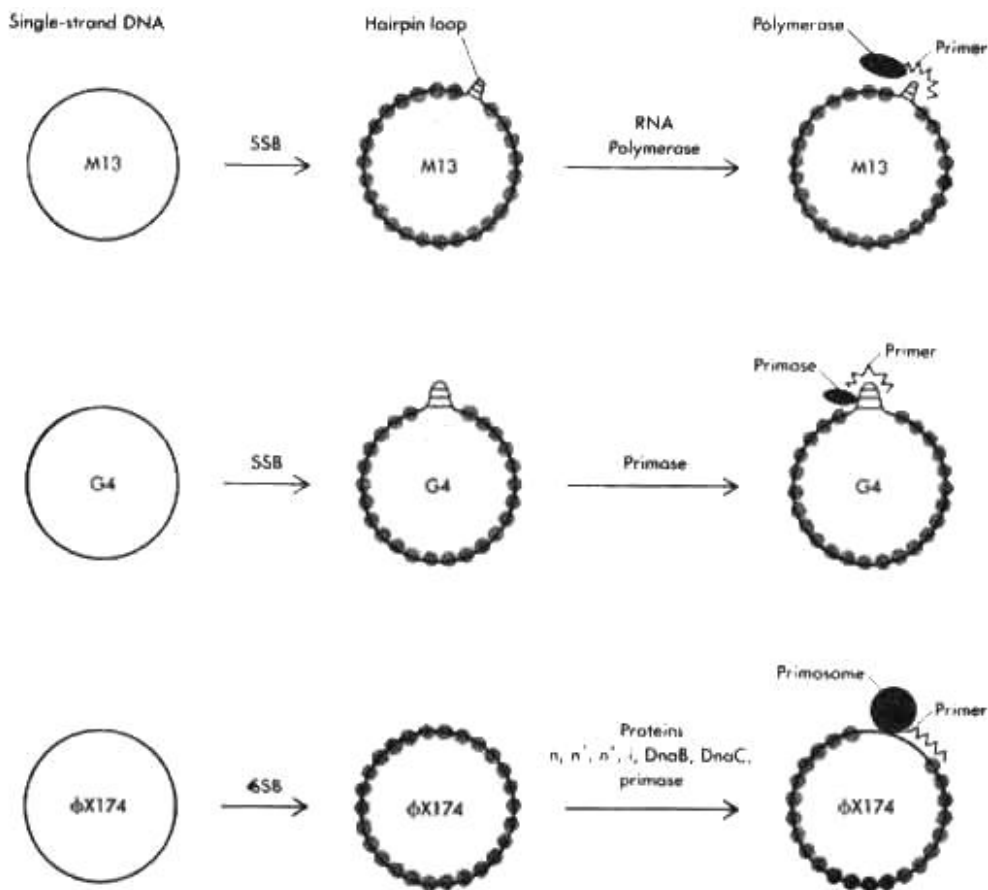
5' می‌گردد مربوط به حرکت رپلیزوم است که به وسیله جزء هلیکاز آن کشیده می‌شود.

گاه عمل طویل شدن آنقدر پیش می‌رود و دم‌هایی ایجاد می‌شوند که چند برابر طول حلقه کامل اولیه هستند. این حالت در مراحل انتهایی همانندسازی *DNA* فاز لامبدا پیش می‌آید. هنوز چگونگی تغییر اندازه این رشته طویل تا حد اندازه مولکول معمولی معلوم نشده است. احتمالاً این عمل به وسیله آنزیم آندونوکلئاز خاصی که در جایگاه‌های معینی از مولکول قطع ایجاد می‌کند صورت می‌گیرد (مانند قطع مولکول *DNA* لامبدا حلقوی به خطی) (ر.ک. به شکل 1). مولکول خطی آزاد شده ممکن است به همان صورت باقی بماند و به وسیله پروتئین‌های ویروسی احاطه شود و یا دو انتهای تکرشته‌ای مکمل آن به یکدیگر وصل شده، مولکول‌های حلقوی جدیدی را بوجود آورند.

تبدیل کروموزوم‌های تکرشته‌ای حلقوی ویروسی به اشکال مارپیچ مضاعف

همانندسازی

برای تبدیل کروموزوم‌های حلقوی تکرشته‌ای (+) بعضی از ویروس‌های کوچک (مثل فاز $\phi X 174$ و G_4 و $M13$) به شکل مارپیچ مضاعف که در هنگام همانندسازی باید وجود داشته باشد (*RF*) و از دو رشته +/- بوجود آمده است، به پرایمرهای *RNA* احتیاج می‌باشد. همانندسازی *DNA* ویروس پس از ورود رشته‌های + به سلول‌های میزبان و اتصال پروتئین‌های *SSB* به آنها آغاز می‌گردد. سپس *RNA* پرایمر که برای شروع سنتز رشته (-) لازم است، ساخته می‌شود. مکانیسم خاصی برای ساختن *RNA* های فوق وجود ندارد و سنتز آنها بستگی به الگوی (+) دارد (شکل).



سه مکانیسم مختلف سنتز RNA پرایمر در مولکول‌های DNA تکرشته‌ای و بررسی

کمپلکس کامل پریموزوم در سنتز DNA، بر روی کروموزوم ϕX174 مونتاژ می‌شود، در حالی که برای ساختن RNA های پرایمر در همانندسازی کروموزوم فاژ G4 تنها پریماز کفایت می‌کند. در DNA فاژ M13 آنزیم RNA پلیمراز کلی باسیل به ناحیه سنجاق‌سری کوچکی که SSB آن را تشخیص نمی‌دهد متصل می‌شود و از این ناحیه برای سنتز RNA پرایمر استفاده می‌کند. RNA های پرایمر ساخته شده در این مرحله بعد از آنکه سنتز رشته (-) به وسیله DNA پلیمراز III تقریباً کامل شد برداشته می‌شوند و آنزیم DNA پلیمراز I فضاهای خالی باقیمانده را پر کرده و با فعالیت اگزونوکلئازی 5' → 3' نوکلئوتیدهای RNA قسمت جلویی را بر می‌دارد.