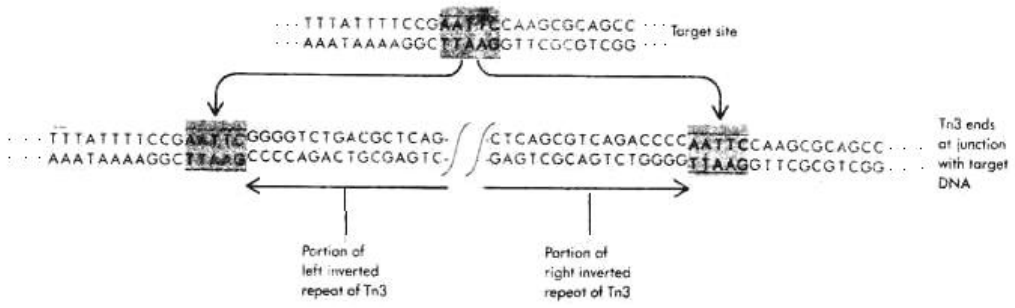
چگونگی حرکت ترانسپوزون‌ها

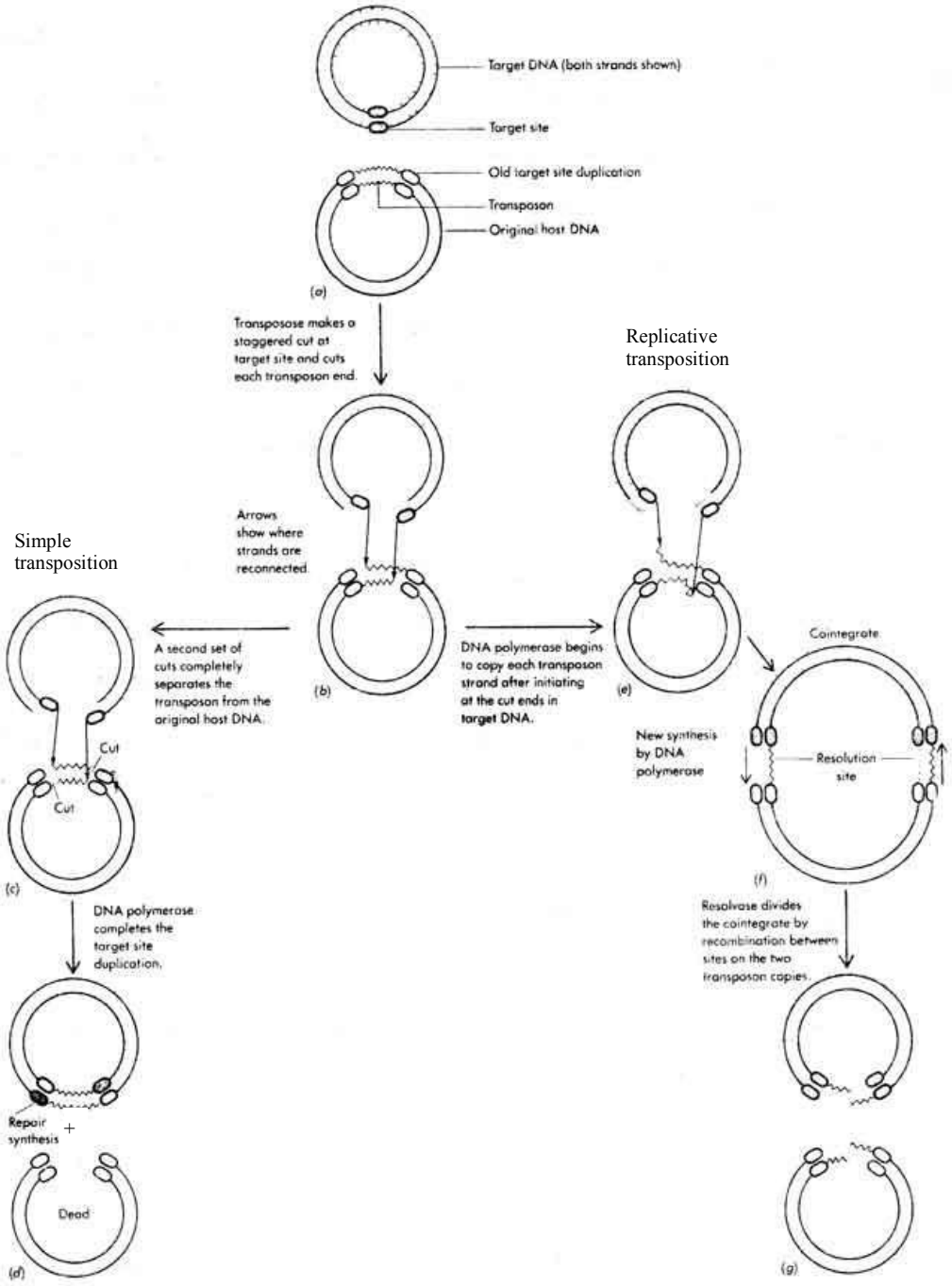
بررسی توالی *DNA* ترانسپوزونهای باکتریها مانند *Tn3* و نیز بررسی جایگاه اتصال آنها به *DNA* هدف تا حدی مکانیسم ترانسپوزیشن را روشن کرده است. اولاً حرکت ترانسپوزونها دقیق می‌باشد و سبب حمل کلیه توالیهای دخولی جایگاه قدیمی می‌شوند، در حالی که بر توالیهای مجاور اثری نمی‌گذارند. این موضوع تنها زمانی می‌تواند صادق باشد که آنزیمی (به احتمال قوی ترانسپوزاز) انتهاهای ترانسپوزون را تشخیص دهد ضمناً انتهاهای فوق باید یکسان باشند. چون آنها جایگاههای اتصال مشترک ترانسپوزاز هستند. ثانیاً در جایگاه دخول، ۳ الی ۱۲ باز از *DNA* هدف (تعداد نوکلئوتیدها بستگی به نوع ترانسپوزون دارد) مضاعف می‌شوند و یک کپی از آنها در هر یک از انتهای ترانسپوزون باقی می‌ماند (شکل۱).



شکل ۱. ردیف نوکلئوتیدهای جایگاه هدف *Tn3* با توالیهای مهم پنج باز که پررنگ شده است. بعد از ورود *Tn3* هر یک از توالیهای پنج نوکلئوتیدی به هر یک از انتهاهای *Tn3* (ولی در جهت معکوس) متصل می‌شوند.

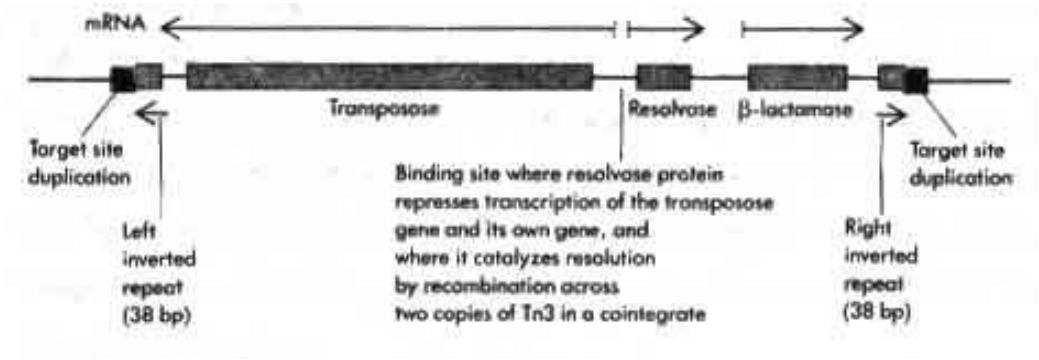
بنابراین لازمه مضاعف شدن جایگاه هدف در هنگام ترانسپوزیشن سنتز DNA است و این اختلاف مهمی با نوترکیبی در جایگاه ویژه که در هنگام انتگره شدن فاژ لامبدا بوجود می‌آمد، دارد. ثالثاً با آنکه اکثر ترانسپوزونها عمدتاً به هر ناحیه‌ای از ژنوم جدید می‌روند ولی حرکت آنها تصادفی نیست بلکه به توالیهای DNA معینی حمله می‌نمایند. بعضی به توالی متقارن چهار تا شش جفت بازی (درست مشابه آنچه سوبسترای آنزیم‌های محدودکننده است) اثر می‌گذارند.

مطالعات انجام شده بر روی آنزیم‌هایی مانند انتگراز فاژ لامبدا و توپوایزومراز که سبب قطع و اتصال مجدد DNA می‌شوند، می‌توانند به عنوان مدلی جهت توضیح چگونگی عمل ترانسپوزاز باشند (شکل۲). احتمالاً ابتدا ترانسپوزاز به انتهای ترانسپوزون و نیز توالی DNA هدفی که ترانسپوزون در آن دخول خواهد یافت، متصل می‌شود و سپس برشهایی با انتهای چسبنده مشابه آنچه آنزیم‌های محدودکننده ایجاد می‌کردند در DNA هدف و ترانسپوزون ایجاد می‌کند و سپس انتهاهای آزاد شده ترانسپوزون به جایگاه هدف متصل می‌شوند و بدین طریق دو مولکول DNA به هم ملحق می‌گردند (ترانسپوزون بین دو انتهای چسبنده DNA اولیه قرار می‌گیرد). به هر حال بر حسب نوع ترانسپوزون یا شرایط خاص رشد، دو نوع اتصال ممکن است انجام شود: در ترانسپوزیشن ساده در انتهاهای ترانسپوزون بطوری که در شکل ۲c ملاحظه می‌شود برشهای اضافی بوجود می‌آید بطوری که تنها ترانسپوزون کامل وارد DNA جدید می‌گردد و این امر سبب باقی ماندن شکافی در DNA میزبان قدیمی می‌شود که کشنده بوده و ممکن است سبب مرگ آن گردد. به هر حال DNA جدید که حالا واجد ترانسپوزون شده است با قرار گرفتن چند نوکلئوتید (این عمل توسط DNA پلیمراز صورت می‌گیرد) ترمیم شده، تمامیت خود را بدست می‌آورد (شکل$2d$).



شکل۲. یک مدل ترانسپوزیشن *(a)* ترانسپوزاز به دو انتهای ترانسپوزون در *DNA* هدف متصل می‌شود. *(b)* برشهای اختصاصی در هر دو مولکول *DNA* ایجاد شده و بعد از تعویض قطعات دوباره به *DNA* متصل می‌گردند. *(c)* سپس ترانسپوزون کاملاً از *DNA* میزبان جدا می‌شود *(d)* و مضاعف شدن جایگاه هدف به وسیله آنزیم *DNA* پلیمراز کامل می‌گردد. یک راه دیگر ترانسپوزیشن همانندسازی کننده است در این حالت *(e)* هر یک از ترانسپوزونها بوسیله *DNA* پلیمراز کپی‌برداری می‌شوند *(F)* و بعد از آنکه در یکدیگر انتگره شدند توسط آنزیم رزولواز از یکدیگر جدا می‌گردند.

بنابراین ترانسپوزیشن ساده عمل حفاظتی است که در آن ترانسپوزون وارد یک جایگـاه جدیـد می‌شود. نوع دوم ترانسپوزیشن همانندسازی کننده است که در آن ترانسپوزون مضاعف می‌شود و تنهـا یک کپی به سوی DNA هدف می‌رود و کپی دوم باقی می‌ماند. در این حالت DNA مبدأ (میزبان) تغییـر نمی‌کند و برشهای ثانویه‌ای در آن ایجاد نمی شود و همان‌گونه که در شکل $2e$ ملاحظه می‌گردد با اتصال کل DNA میزبان و هدف به یکدیگر و انجام همانندسازی (جهت پر کردن شکاف) دو مولکول بطور کامل به یکدیگر ملحق می‌شوند (شکل $2f$). در مرحله بعد در اثر عمل رزولواز در جایگاهی معین، برش ایجـاد می‌گردد. بدین ترتیب دو قطعه DNA مبـدأ و هـدف از یکـدیگر جـدا مـی‌شـوند و بـا تکمیـل عمـل همانندسازی شکافها یک‌بار دیگر پر می‌گردند و در این حالت DNA مبدا نیز از بین نمی‌رود و یک نسخه کامل از آن به DNA هدف می‌رسد. در حالی که چنانچه هر یک از این مراحل تغییر کند، انواع مختلـف فعالیتهای ترانسپوزونها ظاهر می‌شوند. مثلاً اگر آنزیم رزولواز وجود نداشته باشد DNA مرکبی که شامل DNA مبدا و مقصد است بوجود می‌آید (مانند پلاسمید $R1$ شکل 3).



ساختمان ترانسپوزون $Tn3$. $Tn3$ آنزیم بتا – لاکتاماز را که سبب شکستن حلقه بتالاکتام انتی‌بیوتیکهایی چون پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین می‌گردد و نیز دو آنزیم ترانسپوزاز و رزولواز را کد می‌نماید. طول این ترانسپوزون ۴۹۵۷ نوکلئوتید است. پیکانهای موجود در بالای ژن‌ها نشان‌دهنده جهت رونویسی می‌باشند.

ضمناً امکان دارد محل ایجاد قطع مولکول DNA مرکب بطور صحیح انتخاب نشده باشد. در این صورت دو مولکول DNA بازآرایی شده مستقل پدیده خواهد آمد. با بررسی دقیق تر مدلی که در شکل 2 نشان داده شده است ملاحظه می‌شود که چنانچه ترانسپوزیشن در یک مولکول واحد DNA رخ دهد (DNAهای مبدأ و مقصد یکی باشند) حذف یا معکوس شدن DNA صورت می‌گیرد و سبب تغییر شدید ساختمان کروموزوم فوق می‌شود.

برای درک عمیق مکانیسم ترانسپوزیشن باید مراحل فوق بصورت $in\ vitro$ مطالعه شود. خوشبختانه با توجه به آنکه عمل ترانسپوزیشن باکتریوفاژ MU که هم یک فاژ است و هم یک ترانسپوزون ، در عصاره سلولی هم انجام می‌گردد، می‌توان انتظار داشت که به کمک آن بتوان دقیقاً چگونگی حرکت ترانسپوزونها را درک نمود.

تجارب اخیر نشان می‌دهند که حرکت بعضی از ترانسپوزونهای جانداران عالیتر خصوصاً آنهایی که مربوط به رتروویروس‌ها هستند با ترانسپوزونهای باکتریهایی مانند $Tn3$ کاملاً متفاوت است. بنابراین ابتدا از روی عناصر Ty مخمر رونویسی انجام می‌گردد و سپس به کمک آنزیم رونویسی کننده معکوس از روی آن DNA ساخته می‌شود و در اثر نوترکیبی، این قطعه DNA، از طریق مکانیسمی که هنوز بخوبی شناخته نشده است در کروموزوم میزبان جای می‌گیرد.