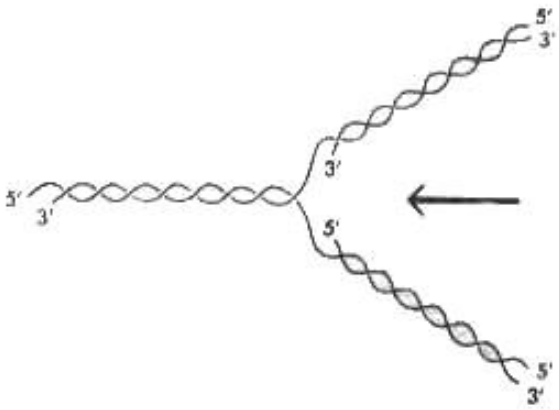
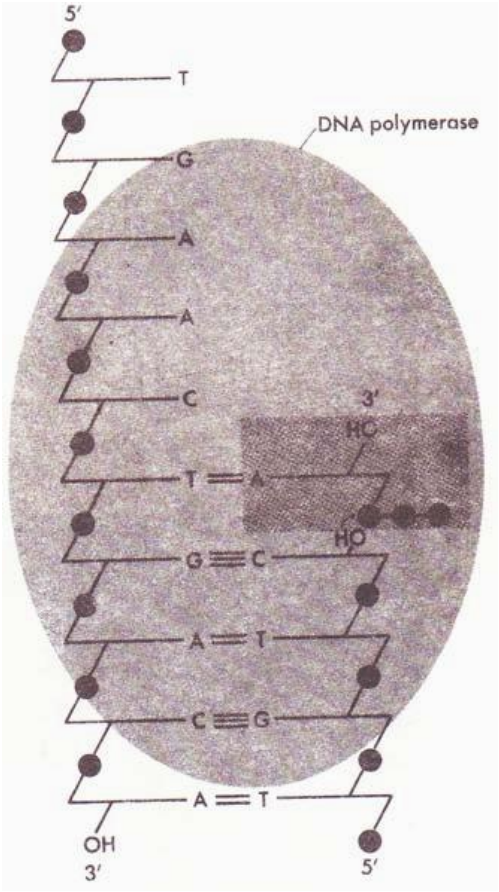
طویل شدن زنجیره‌ها در دو جهت $3' \rightarrow 5', 5' \rightarrow 3'$ انجام می‌شود.

همان‌طور که ذکر شد دو زنجیره مکمل مارپیچ مضاعف در دو جهت مخالف ($3' \rightarrow 5', 5' \rightarrow 3'$) قرار دارند و طبیعی است که زنجیره‌های جدیدی هم که در حباب همانندسازی ساخته می‌شوند نیز جهت مخالف خود را حفظ کنند، بنابراین جهت رشد زنجیره‌های جدید، باید در یک زنجیره $5' \rightarrow 3'$ و در دیگری $3' \rightarrow 5'$ باشد (شکل)



جهت کلی طویل شدن زنجیره‌ها در چنگال همانندسازی

با این حال همه آنزیم‌هایی که نوکلئوتیدها را به هم متصل می‌کنند و باعث طویل شدن زنجیره می‌شوند عمل خویش را در جهت $5' \rightarrow 3'$ انجام می‌دهند و به طور کلی آنزیم‌های پلیمریزه کننده DNA تنها قادرند که نوکلئوزیدهای تری - فسفاته را به انتهای $3' - OH$ زنجیره پلی‌نوکلئوتیدی اضافه نمایند (شکل).



واکنش یک نوکلئوتید با انتهای آزاد $OH - 3'$ مولکول DNA در حال رشد.

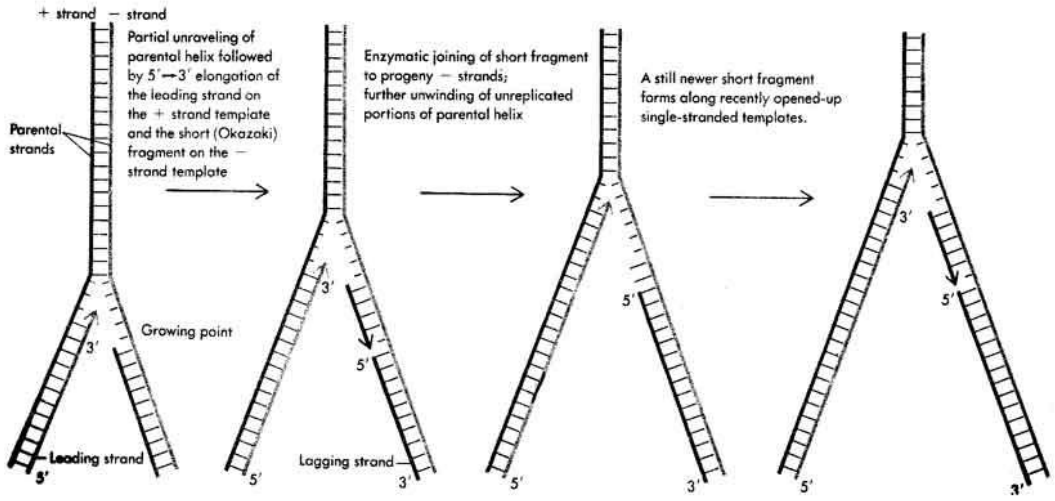
ولی آیا آنزیم‌های پلیمریزه‌کننده‌ای که قادر باشند نوکلئوتیدها را به انتهای آزاد $OH - 5'$ متصل کنند نیز وجود دارند؟ با مطالعات وسیعی که انجام شده است هنوز چنین آنزیم‌هایی پیدا نشده‌اند.

قطعات کوچک به عنوان پیش‌ساز برای زنجیره‌های طویل قرار می‌گیرند:

رشته‌های رهبر و پیرو

تناقض ظاهری سنتز زنجیره‌ها در جهت $5' \rightarrow 3'$ بـا کـشف ایـن نکتـه کـه همـواره دزاکـسی ریبونوکلئوتیدها مستقیماً به زنجیره پلی‌نوکلئوتیدی جدید متصل نمی‌شوند بلکه بعضی اوقـات قطعـات کوچک DNA (به بزرگی ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ باز آلی) تشکیل می‌گردند و سپس به وسیله آنزیم لیگاز به یکدیگر متصل می‌شوند، از بین رفت.

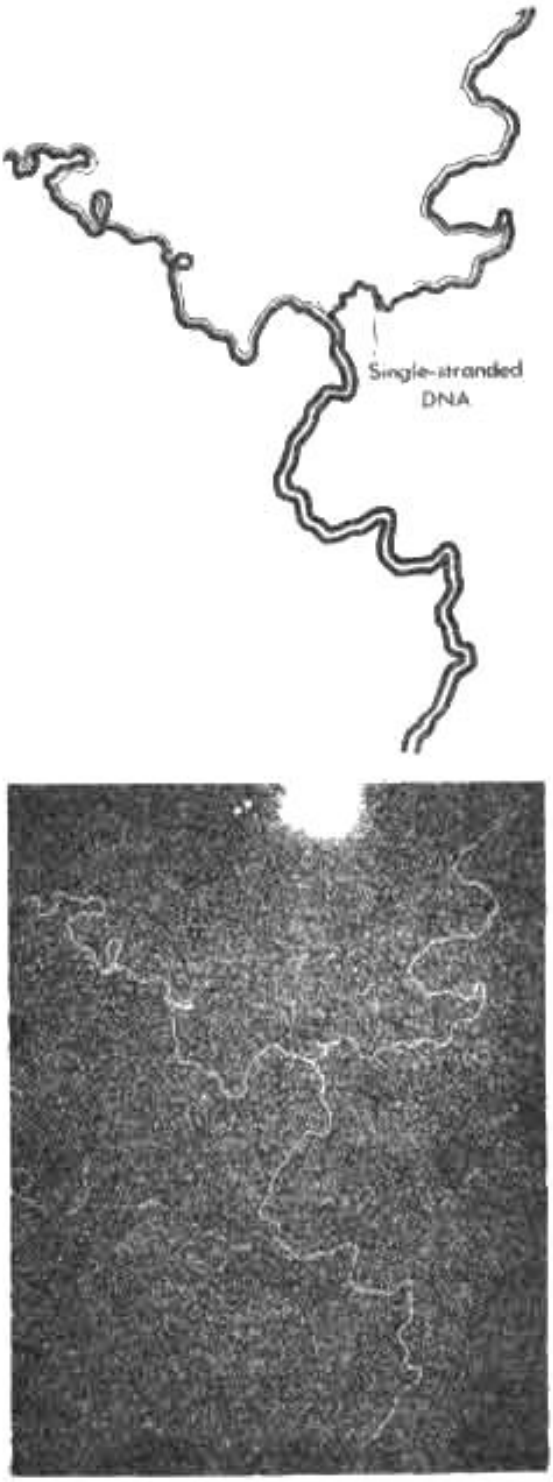
مشاهدات نشان داد که زنجیره‌هایی که ظاهراً در جهت $5' \rightarrow 3'$سنتز می‌شوند در واقع ابتدا بـه صورت قطعات کوچکی (قطعات اوکازاکی) از جهت $5' \rightarrow 3'$ ساخته و سپس به یکدیگر متصل می‌شـوند (شکل).



طبق فرضیه، گفته می‌شود که رشته‌های پیرو دختر در اثر اتصال قطعات کوچک بوجود می‌آیند و سنتز در هر یک از قطعات در جهت $5' \rightarrow 3'$ پیش می‌رود.

بنابراین آنزیم‌های مشابهی در سنتز دو رشته جدید شرکت می‌کنند و نوکلئوزیدهای تری‌فسفاته در قطعات اوکازاکی نیز به انتهای $3' - OH$ متصل می‌شوند.

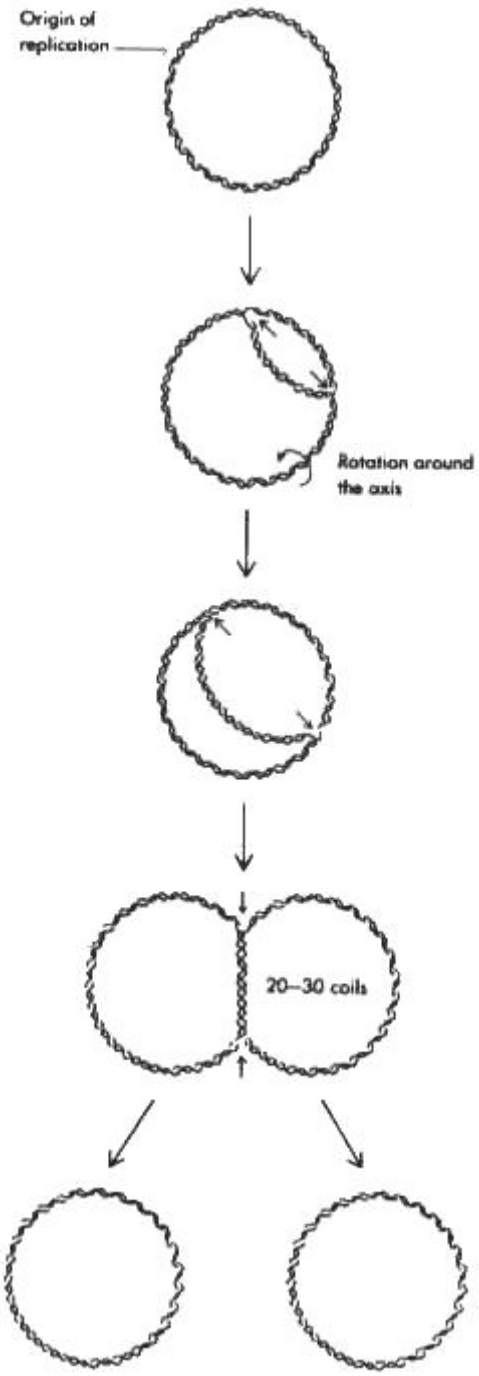
امروزه می‌دانیم که قطعات اوکازاکی تنها پیش‌ساز نیمی از زنجیره‌های دختر (آنهایی که سنتز کلی آنها ظاهراً در جهت $5' \rightarrow 3'$ است) می‌باشند. ضمناً سنتز رشته‌ای که در جهت $5' \rightarrow 3'$ رشد می‌کند (رشته رهبر) سریع‌تر از رشته دیگر (رشته پیرو) است و این اختلاف در سرعت سنتز در جهات $5' \rightarrow 3'$ و $3' \rightarrow 5'$ باعث بوجود آمدن قطعه کوچک تک‌رشته‌ای در چنگال همانندسازی می‌شود (شکل). با شروع سنتز قطعه اوکازاکی دیگر، ناحیه تک‌رشته ای فوق از بین می‌رود و مجدداً در ناحیه جدیدی تشکیل می‌گردد. قطعه اوکازاکی جدید با اتصال به قطعه قبلی به صورت ممتد در می‌آید. شروع سنتز یک قطعه اوکازاکی از نقاط معینی از الگوی تک‌رشته‌ای مادر صورت می‌گیرد و فاصله بین علائم فوق در DNA های مختلف، طول قطعات اوکازاکی در آنها را تعیین می‌کند.



سرعت متفاوت سنتز رشته‌های رهبر و پیرو منجر به بوجود آمدن ناحیه تک‌رشته‌ای در *DNA* مادر در محل چنگال همانندسازی می‌شود.

همانندسازی کامل DNA در لوله آزمایش

در حالی که در ابتدا بیوشیمیست‌ها بسیار خوشحال بودند که می‌توانستند مولکول‌های مشابه DNA را در لوله آزمایش تولید نمایند، اما امروزه آنها اهداف والاتری دارند بطوری که نه تنها در جستجوی شرایطی هستند که سنتز DNA در لوله آزمایش را تسریع کنند بلکه مایلند تمام عوامل سلولی همانندسازی DNA را در لوله آزمایش پیدا نمایند. یکی از هدفها این بود که به جای اضافه کردن پیش سازهای نوکلئوتیدی به یک زنجیره در حال رشد، بتوانند یک مولکول DNA کامل بسازند. در حال حاضر با پیشرفت‌هایی که انجام گرفته است سنتز DNA در لوله آزمایش تحت شرایط مشابه شرایط سلولی امکان‌پذیر گشته است. با در دست داشتن عصاره سلولی، سنتز DNA به سرعت انجام می‌گیرد و مولکول حاصل بسیار شبیه DNA سلول مزبور است به طوری که دو مولکول را نمی‌توان از یکدیگر تمیز داد. عصاره حاصل از سلول کلی‌باسیل نه تنها قادر است مولکول خطی T_7 را بسازد بلکه همانندسازی نیمه حفاظتی DNA پلاسمید حلقوی را نیز هدایت می‌کند. در مورد پلاسمید نقطه شروع همانندسازی همانند شرایط سلولی است. بعد از اتمام همانندسازی حباب همانندسازی از بین می‌رود و دو حلقه از یکدیگر جدا می‌شوند (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 ابرمارپیچ هستند و تنها در هر لحظه قسمت کوچکی باز می‌شود و همانندسازی در آن صورت می‌گیرد.

مولکول‌های حلقوی جدید نیز به عنوان الگو قرار گرفته و همانندسازی نیمه حفاظتی ادامه می‌یابد. از عصاره سلولی کلی‌باسیل برای تخلیص و مطالعه مکانیسم عمل آنزیم‌هایی که در همانندسازی شرکت می‌کنند استفاده می‌شود. به هر حال امید است با پیشرفت بیشتر، آنزیمهای دیگری که در همانندسازی شرکت دارند، مشخص شوند و اطلاعات ناقص در مورد بعضی واکنشها و مراحل همانندسازی جای خود را به تفسیرهای کامل و ارائه مکانیسم های منطقی بدهند.

تحقیقاتی نیز در دست انجام است که بتوان مولکول‌های تک‌رشته‌ای ویروسی مانند $M13$ و $\varphi X\,174$ را به صورت مولکول‌های حد واسط دو رشته‌ای در آورد. با کمال تعجب ملاحظه شده است که آنزیم‌هایی که در تبدیل مولکول تک‌رشته‌ای $\varphi X\,174$ به نوع دو رشته‌ای عمل می کنند با آنزیم‌هایی که همین عمل را در مورد $M13$ انجام می‌دهند متفاوت می‌باشند. به عنوان مثال برای همانندسازی $\varphi X\,174$ بیان چند ژن مربوط به همانندسازی باکتری ضروری است، در حالی که برای همانندسازی $M13$ نیازی به فعالیت ژن‌های فوق نیست. بنابراین ملاحظه می‌شود که مولکول‌های بظاهر مشابه شرایط همانندسازی متفاوتی را طلب می‌کنند.