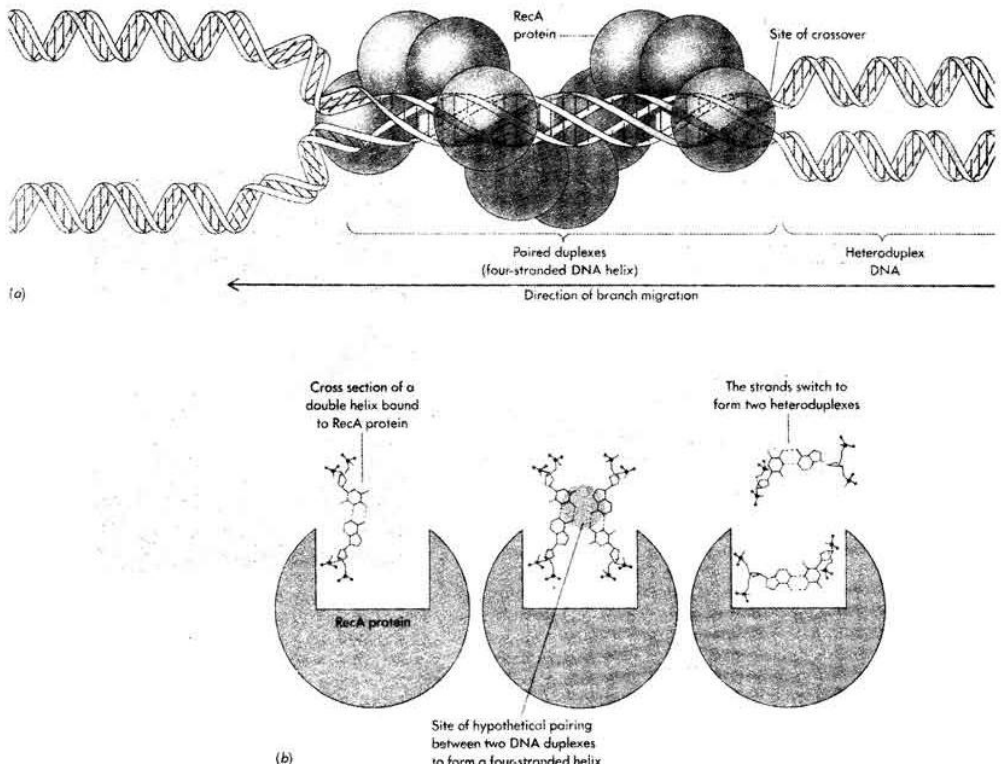
پروتئین $RecA$ سبب ایجاد ساختمان هالیدی در لوله آزمایش می‌شود

با آنکه پروتئین $RecA$ ابتدا سبب انتقال تنها یک رشته DNA بـه درون یـک مـارپیچ مـضاعف DNA می‌شود، ولی تعویض رشته در نهایت در مورد هر دو رشته صورت می‌گیرد. در شـکل ۱ مـشاهده می‌گردد که پروتئین $RecA$ سبب ایجاد یک مفصل نوترکیبی کامل بین دو مارپیچ مـضاعف یکـسان در لوله آزمایش می‌شود. در انتهای یکی از مارپیچ‌های مضاعف فوق شکافی وجود دارد که سبب شروع عمل تبادل رشته می‌گردد. هنگامی که جفت شدن دو رشته DNA به وسـیله پـروتیئن $RecA$ از ایـن نقطـه شروع می‌شود جابجا شدن رشته‌ها به تمام نواحی مارپیچ سرایت می‌نماید (ر.ک. بـه شـکل $1c$). بـدین ترتیب با باز شدن تدریجی مارپیچ مضاعف بالایی در سمت چپ شکاف، مارپیچ دو رگه جدیدی در سمت راست محل تقاطع (مفصل) تشکیل می‌گردد (ر.ک. به شکل $1d$). گفتـه مـی‌شـود کـه در ایـن مرحلـه پروتئین $RecA$ در سمت چپ ناحیه تبادل، مارپیچ چهار رشته‌ای مرکب از دو مارپیچ مـضاعف اولیـه را بوجود می‌آورد و از این طریق سرعت تعویض رشته‌ها افزایش یافته و بدین ترتیب محل تقاطع بـه تمـام نواحی جلوتر سرایت می‌نماید (شکل 2).

(شکل 2).

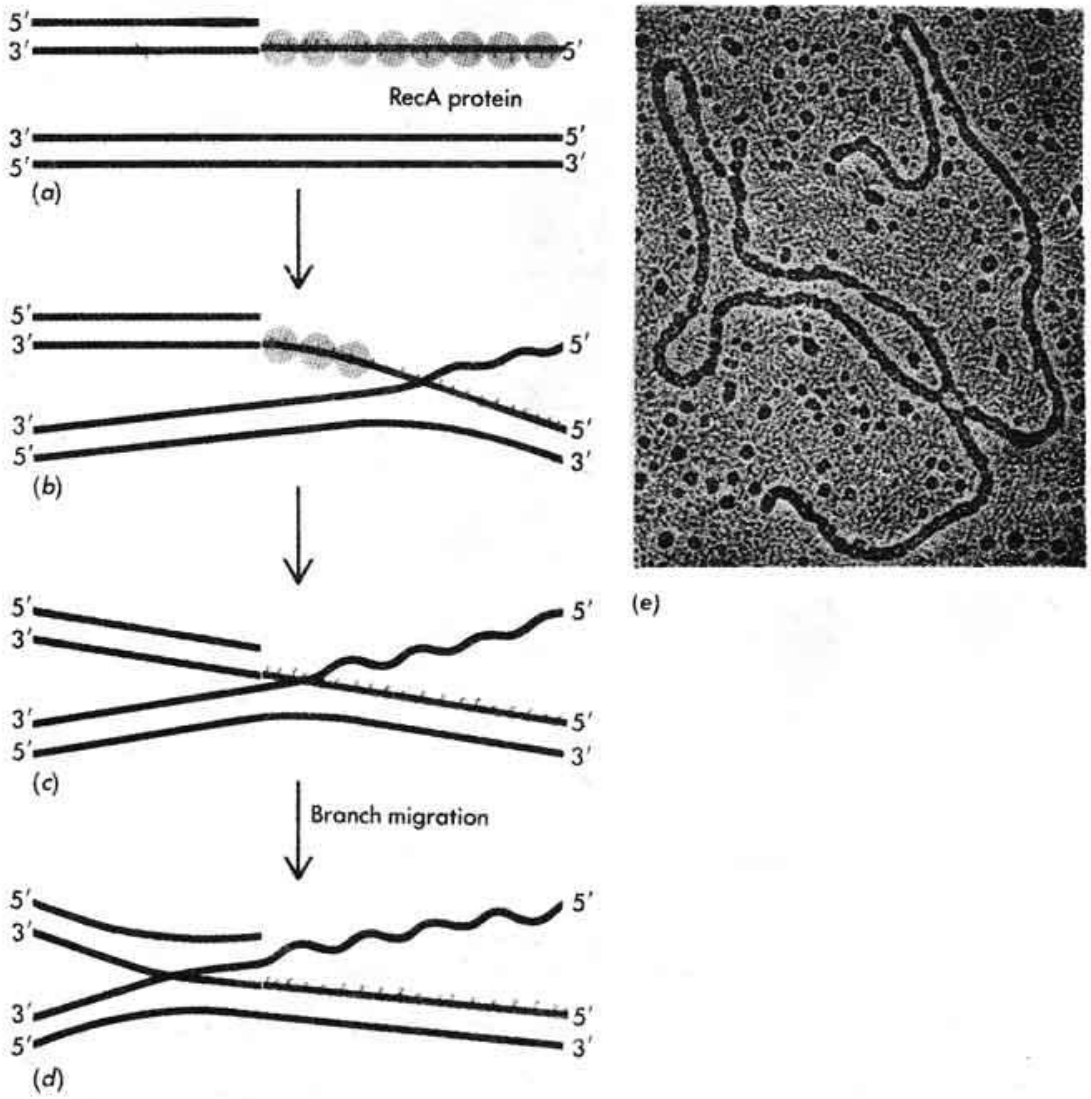


نقش پیشنهادی یک مارپیچ فرضی چهاررشته‌ای *DNA* در نوترکیبی. *(a)* این ساختمان همتراز دو مولکول *DNA* کاملاً دو رشته‌ای موجود در شکل 1 است، با این تفاوت که در این شکل دو قطعه *DNA* همولوگ در ناحیه تعویض به صورت مارپیچ چهار رشته‌ای نشان داده شده‌اند و ضمناً در همین ناحیه پروتئین *RecA* مشخص شده است. *(b)* چگونگی عمل پروتئین *RecA* در تبادل متقابل رشته‌ها. این عمل احتمالاً از طریق تشکیل یک *DNA* حد واسط از چهار رشته تشکیل شده است صورت می‌گیرد.

مطالبی که تا کنون گفته شد، در مورد چگونگی نوترکیبی در لوله آزمایش بود سئوالی که اکنون مطرح است این است که چگونه نوترکیبی می‌تواند در سلول اتفاق بیفتد. در اینجا نیز با اتصال پروتئین *RecA* به محل شکاف موجود در *DNA*، عمل نوترکیبی شروع می‌شود ولی مسئله این است که اگر شکاف در یک انتهای *DNA* نباشد (بلکه در هر جای دیگر آن باشد) عمل نوترکیبی چگونه انجام

می‌شود؟ برای توضیح این عمل مدل اصلاح شده‌ای از مدل قبلی (در مورد نوترکیبی در لوله آزمایش که در شکل 1 نشان داده شده است) پیشنهاد گردیده است.

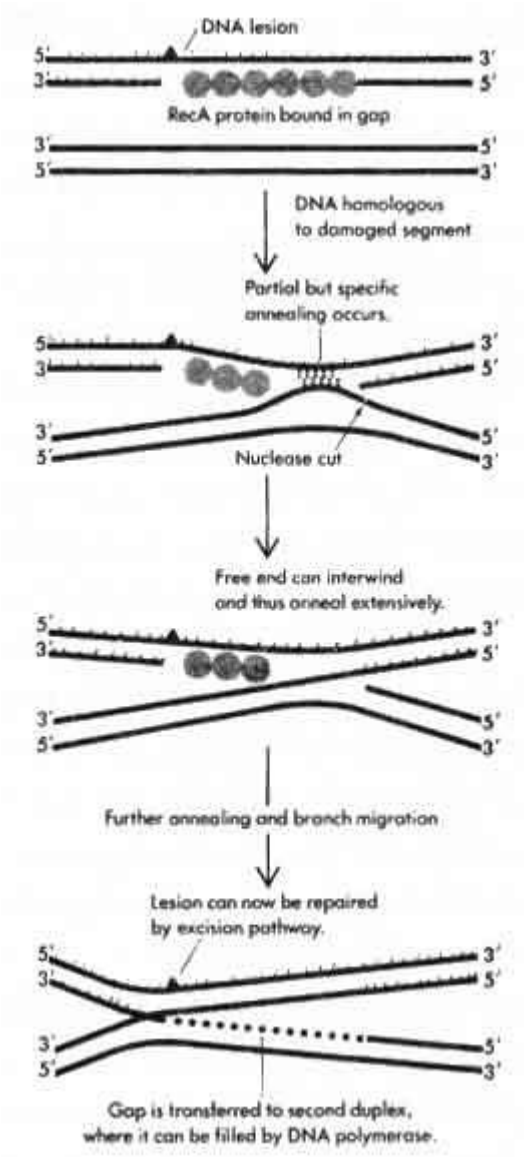
(شکل 1).



مدل واکنش پروتئین *RecA* در ایجاد مفاصل نوترکیبی در لوله آزمایش. دو رشته *DNA* اولیه یکسان هستند با این تفاوت که در انتهای یک شکاف وجود دارد یعنی *DNA* به صورت تک‌رشته‌ای در آمده است. عکس الکترون میکروسکوپی حاصل این نوترکیبی را نشان می‌دهد.

بر طبق این مدل باید بریدگی در DNA هدف (سالم) بوجود آید. با ایجاد بریدگی فوق یک انتهای آزاد ایجاد می‌شود و بدین ترتیب رشته‌ها می‌توانند در یکدیگر تداخل کرده و مارپیچ‌های دو رگه را ایجاد نمایند. به نظر ما هنگامی که دو DNA همولوگ کنار یکدیگر قرار گرفتند، نخست اتصال ضعیفی بین یکی از رشته‌های DNA سالم و قسمتی از رشته DNA آسیب دیده (شکل 3) در محل شکاف برقرار می‌شود، سپس یک آنزیم نوکلئاز در محل فوق (محل تشکیل DNA دو رگه اولیه) برشی ایجاد می‌کند و بتدریج رشته‌ها جابجا می‌شوند و همان‌گونه که در مدل قبل گفته شد مفصل تقاطع رشته‌ها بوجود می‌آید. روش دیگر، استفاده از آنزیم $RecC$ است (که در قسمت بعدی به طور کامل معرفی خواهد شد). این آنزیم قادر است یک DNA تک‌رشته‌ای با یک انتهای آزاد ایجاد نماید. این DNA میتواند با مارپیچ مضاعف DNA همولوگ خود جفت شود (به صورتی که در شکل 2 در مورد نوترکیبی در لوله آزمایش نشان داده شده است). با ایجاد قطع در DNA، یکی از رشته‌ها از مارپیچ مضاعف جدا می‌گردد و با مهاجرت نقطه انشعاب مفصل هالیدی می‌تواند تشکیل شود.

(شکل 3)



مسیر احتمالی شروع نوترکیبی در یک سلول در محل یک شکاف. در اینجا شکاف فوق، مجاور منطقه‌ای آسیب دیده نشان داده شده است. در این ناحیه به دلیل تغییر شیمیایی بازها، DNA نتواسته است به عنوان الگو عمل نماید، بنابراین در این ناحیه همانندسازی صورت نگرفته که این امر سبب ایجاد شکاف در آن شده است. همانگونه که ملاحظه می‌شود در ناحیه شکاف، رشته DNA بصورت تک‌رشته‌ای می‌باشد صدمات وارد به DNA و چگونگی ترمیم آنها در فصل بعد توضیح داده شده است.