
تازه های میکروب شناسی

ماشین همانند سازی DNA در آرکی ها و مقایسه آن با باکتری ها

نیما میرزائی

دانشجوی دکترا میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات

چکیده

آرکی ها گروه بزرگی از پروکاریوت ها هستند که با وجود شباهت های ظاهری زیادی که با باکتری ها دارند بسیاری از ساختارها و عملکردهای فیزیولوژیک آنها کاملاً با باکتری ها متفاوت است. ماشین همانند سازی DNA در آرکی ها تفاوت چشمگیری با ماشین همانند سازی باکتری ها دارد. بسیاری از آرکی ها مانند *S. solfataricus* چند origin برای شروع همانند سازی دارند. همانند باکتری ها آرکی ها چندین DNA polymerase مختلف برای سنتز زنجیره جدید DNA دارند. بسیاری از آنزیم ها و پروتئین های درگیر در فرآیند همانند سازی DNA در آرکی ها ساختار و عملکردهای پیچیده ای دارند. به طور کلی عملکرد اجزاء ماشین همانند سازی آرکی ها شباهت بیشتری به یوکاریوت ها دارد.

واژگان کلیدی: آرکی ها، DNA polymerase، Primase، MCM

A-T چند ناحیه مستقل به نام Dna box ایجاد می کنند. به Dna box ها پروتئین آغازگر DnaA متصل می شود (۲). برخلاف باکتری ها کروموزوم یوکاریوت ها چندین origin دارند. پروتئین های آغازگر در یوکاریوت ها نیز پروتئین های Orc و Cdc می باشند (۳).

در ابتدا به نظر می رسید که چون کروموزوم آرکی ها شبیه به باکتری ها می باشد بنابراین آنها هم مانند باکتری ها یک origin دارند. اولین مبداء همانند سازی DNA آرکیایی در *Pyrococcus abyssi* شناسایی شد. پروتئین های آغازگر متصل شونده به DNA در آرکی ها هومولوگ Orc1 و Cdc6 یوکاریوتی هستند. نقطه آغاز همانند سازی در *Pyrococcus abyssi* در مجاورت ژن های کد کننده Orc1 و Cdc6 قرار گرفته است. در باکتری ها نیز نقطه آغاز همانند سازی در مجاورت ژن کد کننده DnaA واقع شده است. با استفاده از آنالیز الکتروفورز دو بعدی مشخص شد که

از زمان پژوهش های Carl woese در اواخر دهه ۱۹۷۰ به خوبی مشخص شده است که آرکی ها یک قلمرو مشخص از حیات را تشکیل می دهند. تعیین توالی ژنوم برخی از آرکی ها در اواسط دهه ۱۹۹۰ نشان داد که ماشین همانند سازی آرکی شباهت بسیار زیادی به ماشین همانند سازی یوکاریوتی و از نظر تکاملی تفاوت های زیادی با باکتری ها دارد. به عبارت دیگر ماشین همانند سازی آرکی ها شکل ساده شده ماشین همانند سازی یوکاریوتی است (۱).

نقطه شروع همانند سازی

(Origin of replication)

بر طبق فرضیه رپلیکون Jacob، در باکتری ها برای آغاز همانند سازی DNA یک پروتئین آغازگر به یک توالی Cis-acting در DNA متصل می شود. کروموزوم باکتری ها دارای یک origin (OriC) است که غنی از نوکلئوتیدهای A و T می باشد. این توالی های غنی از

SSBs

پروتئین های SSB در تمامی قلمروهای حیات وجود دارند. آنها DNA تک رشته ای را در برابر تجزیه و تغییرات شیمیایی در طول فرآیندهای همانند سازی، نوترکیبی و سایر فرآیندها که در آنها دو رشته DNA باز می شود حفظ می کنند. تمام SSB ها از طریق یک OB fold به DNA متصل می شوند. SSB باکتریایی هوموترامر است که هر زیر واحد آن یک OB fold برای تماس با DNA و یک C-terminal اسیدی (CTD) برای بر همکنش های پروتئین-پروتئین دارند (۱).

در یوکاریوت ها SSB یک هتروتریمر به نام پروتئین همانند سازی A (RPA) می باشد که دارای ۴ fold B است. آرکی ها چندین SSB دارند. SSB آرکی ها از نظر ساختاری و عملکردی شباهت بیشتری به RPA یوکاریوتی دارد تا SSB باکتریایی. بهترین نمونه از SSB های آرکیایی که مورد مطالعه قرار گرفته SSB ۱۶ کیلو دالتونی مربوط به *S. solfataricus* است. این پروتئین یک OB fold دارد. آنالیز توالی آمینواسیدی این پروتئین نشان داد که C-terminal آن بیشترین شباهت را به SSB باکتریایی دارد و دارای CTD اسیدی شبیه به *E. coli* است. وجود این CTD برای اتصال به DNA ضروری نیست ولی در برهم کنش های پروتئین-پروتئین نقش دارد (۴).

پریماز

DNA پلیمراز ها نمی توانند به صورت Denovo سنتز DNA را شروع کنند. بنابراین نیاز به یک پرایمر از جنس RNA یا DNA دارند. این پرایمر به وسیله آنزیم پریماز سنتز می شود. پریماز باکتریایی یک پروتئین مونومر به نام DnaG است. پریماز یوکاریوتی دایمر است. این پروتئین دایمر از یک زیر واحد کاتالایتیک کوچک به نام PriS و یک زیر واحد بزرگتر غیر کاتالایتیک به نام PriL تشکیل شده است. پریماز یوکاریوتی با Pol α و زیر واحد B واکنش می دهد و کمپلکس Pol α /Primase را ایجاد می کند. آرکی ها هومولوگ های PriS و PriL یوکاریوتی را دارند ولی فاقد پروتئین Pol α و زیر واحد B هستند. PriS آرکی *S. solfataricus* و گونه های مختلف *Pyrococcus* در

Sulfolobus solfataricus دو ori دارد. این آرکی سه ژن *cdc* دارد که پروتئین های *Cdc6-1*, *Cdc6-2* و *Cdc6-3* را تولید می کند. در این آرکی دو OriC1 و OriZ به ترتیب در بالا دست ژن های *cdc6-1* و *cdc6-2* قرار گرفته اند. در تحقیقات بعدی origin سومی به نام OriC3 در *Sulfolobus solfataricus* شناسایی شد. این origin به فاصله حداقل 50Kb از ژن *cdc6-3* قرار گرفته است. بنابر نتایج حاصل از این تحقیقات آرکی ها بر خلاف باکتری ها چندین Origin برای شروع همانند سازی دارند (۴).

هلیکاز

در باکتری ها پروتئین DnaB و در یوکاریوت ها پروتئین MCM (Mini-Chromosome Maintenance complex) فعالیت هلیکازی دارند. در باکتری ها هلیکاز معمولاً هوموگزامر و در یوکاریوت ها به شکل هتروهگزامر است. تمامی آرکی هایی که ژنوم آنها به طور کامل تعیین توالی شده است حداقل یک پروتئین مشابه با MCM یوکاریوتی دارند. بر خلاف یوکاریوت ها MCM در آرکی ها به شکل هوموگزامر است و فقط یک ژن مسئول تولید آن می باشد. MCM در آرکی ها برای انجام فعالیت هلیکازی با Cdc6 و پریماز واکنش می دهد (5). در حالیکه در باکتری ها DnaB برای اتصال به DNA و انجام فعالیت هلیکازی با DnaA و DnaC واکنش می دهد. DnaB به DnaC متصل می شود و شکل فضایی آن را تغییر می دهد. این مسئله موجب اتصال آسان تر DnaB به DNA می گردد (۲).

اطلاعات بسیار کمی درباره نحوه اتصال MCM به DNA و آغاز فعالیت هلیکازی وجود دارد. مطالعه MCM در آرکی *Metahnobacterium thermoautotrophicum* نشان داد که ابتدا حلقه هگزامری MCM شکسته و سپس مجدداً دور DNA شکل می گیرد. در آرکی ها پروتئین مشابه با DnaC باکتریایی یافت نشده است. تمامی پروتئین های MCM آرکیایی یک C-terminal کاتالایتیک دارند که در آرکی ها حفظ شده است. N-terminal این پروتئین ها کمتر حفظ شده و مسئول مولتی مر شدن و تنظیم فعالیت هلیکازی MCM است (۴).

پیشرفت های چشمگیری در درک بهتر فرآیند همانند سازی DNA آرکی ها و پروتئین های دخیل در آن به دست آمده است. با این وجود واضح است که اطلاعات ما در این زمینه بسیار محدود و ناچیز است. همین مسئله انجام تحقیقات گسترده بر روی ماشین همانند سازی آرکی ها را ناگزیر می سازد.

منابع

1-Garrett A; and Klenk H. (2007). The birth of Archaea: a personal retrospective, Chapter: 1, Archaea, Evolution, Physiology, and Molecular Biology, 1st edition, Blackwell publishing. 1-16.

2-Trun N; and Tromty J. (2004). The bacterial DNA molecule, Chapter: 2, Fundamental bacterial genetics. 1st edition, Blackwell publishing. 17-37.

3-Brown T. A. (2007). Genomes 3. 3rd edition, Garland science, 1-7.

4-Barry E; and Bell S, (2006). DNA replication in the Archaea. Microbiol. Mol. Biol. Rev. **70**: 876-887.

5-Costa A; and Olesti S, (2008). The MCM complex: (just) a replicative helicase?. Bioche. Soci. Trans. **36**: 136-140.

6-Brown J; and Doolittle W, (1997). Archaea and the Prokaryote-to-Eukaryote Transition, Microbiol. Mol. Biol. Rev., **61**: 456-502.

شرایط آزمایشگاهی هم DNA و هم RNA سنتز می کنند. علی رغم این توانایی، PriS آرکی *S.solfataricus* تمایل بیشتری به نوکلئوزید تری فسفات دارد تا به داکسی نوکلئوزید تری فسفات. بنابراین به احتمال زیاد در سلول آرکی، این پروتئین RNA پرایمر سنتز می کند (۴).

DNA پلیمراز

همانند باکتری ها، آرکی ها نیز دارای چندین DNA پلیمراز مختلف هستند. درون قلمرو آرکی فاصله تکاملی آشکاری در توزیع خانواده های مختلف DNA پلیمراز وجود دارد. ارگانیزم های راسته Euryarchaeota DNA پلیمرازهایی از دو خانواده مجزا دارند. DNA پلیمرازهای منحصر به فرد خانواده B و خانواده D (۶). DNA پلیمرازهای خانواده D منحصر به راسته Euryarchaeota نیستند و از دو زیر واحد DP1 و DP2 تشکیل شده اند. فعالیت پلیمرازی توسط زیر واحد DP2 بزرگتر یعنی DP2 صورت می گیرد. زیر واحد DP1 فعالیت اگزونوکلئازی 5' به 3' دارد. DP1 بیشترین فعالیت اگزونوکلئازی را بر روی رشته های حاوی جفت باز اشتباه و DNA تک رشته ای انجام می دهد. بنابراین فعالیت Proof reading هولوانزیم مربوط به این زیر واحد است. راسته Crenarchaeota DNA پلیمراز خانواده D را ندارند ولی به طور معمول چندین پلیمراز از خانواده B دارند. علاوه بر فعالیت پلیمرازی، خانواده B پلیمراز ها در فعال شدن فرآیند ترمیم DNA نیز نقش دارند (۴).

Comparison of DNA Replication Machinery in Archaea and Bacteria

Mirzaei N.

PhD. Student of Microbiology, Science and Research Branch Islamic Azad University

Abstract

Archaea are one of the biggest groups of prokaryotes. Despite aspect similarities, there are many structural and functional differences between archaea and bacteria. DNA replication machinery in archaea is different from the bacterial machinery. Most of archaeal species such as *S.solfataricus* have more than a single origin of replication. Like bacteria, archaea have a different number of DNA polymerases for synthesis of the new strand of DNA. Most of proteins and enzymes involved in DNA replication process in archaea have complicated structure and functions. Overall there are many similarities between the components of archaeal DNA replication machinery and the eukaryotic one.

Keywords: Archaea, DNA polymerase, Primase, MCM.