بسم الله الرحمن الرحيم

مروری بر

ژنتیک مولکولی و مهندسی ژنتیک

گردآوری و تألیف:

دانشجوان دکترای بیوتکنولوژی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: همانندسازی، رونویسی، ترجمه..... ۲

فصل دوم: سیتوژنتیک..... ۱۱۱

فصل سوم: ژنتیک تکوین..... ۱۴۰

فصل چهارم: موتاسیون..... ۱۴۹

فصل پنجم: مهندسی ژنتیک..... ۲۶۰

فصل ششم: ژنتیک سرطان..... ۳۷۰

فصل هفتم: ژنتیک ایمنی..... ۴۱۵

فصل اول

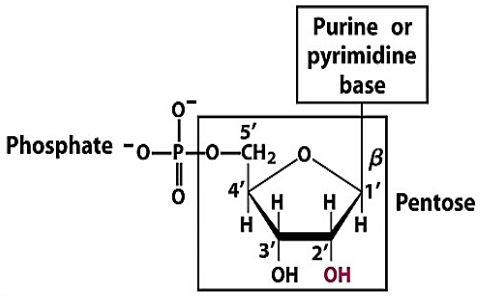
همانندسازی، رونویسی، ترجمه

مطالعه DNA

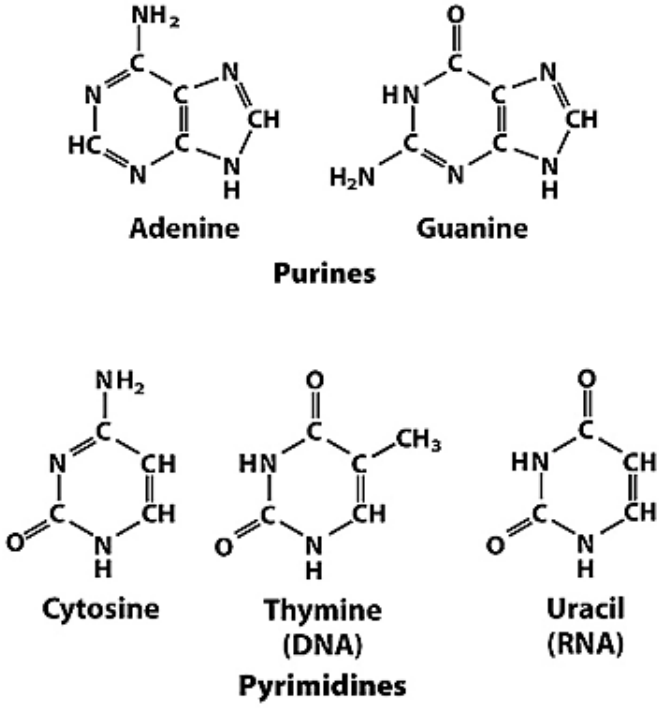
DNA از یک پلیمر بلند متشکل از نوکلئوتیدها تشکیل شده است. نوکلئوتیدها از یک قند پنج کربنه (ریبوز در RNA و دئوکسی ریبوز در DNA) ، یک باز آلی نیتروژن دار و یک یا چند گروه فسفات تشکیل شده اند. نوکلئوتید بدون گروه فسفات را **نوکلئوزید** می نامند. نوکلئوتیدها یا دارای بازهای پورین (A,G) یا بازهای پریمیدین اند (C,T,U). در ساختمان RNA به جای T باز U قرار می‌گیرد. در یک DNA دو رشته ای تعداد نوکلئوتیدهای پورین با تعداد نوکلئوتیدهای پیریمیدین برابر است (قانون شارگف) اما این قانون در مورد RNA که تک رشته ای است صحت ندارد. به کل محتوای DNA یک سلول هاپلوئید C-value می گویند که در سلول ها و موجودات مختلف متفاوت است. همیشه مقدار کل DNA یک موجود با پیچیدگی آن ارتباط ندارد و لزوما موجودات پیچیده میزان DNA بالاتری نسبت به موجودات کمتر تکامل یافته ندارند که به این حالت C-value paradox می گویند. به عنوان مثال بعضی از مارمولک ها دارای اندازه ژنوم حدود 40 برابر بیشتر از انسان هستند. در کل برای ساخت اسیدهای نوکلئیک (شامل DNA و RNA) 5 نوع نوکلئوتید استفاده می‌شود. اسیدهای نوکلئیک در طول موج 260^{nm} حداکثر جذب نوری را دارند و از این خصوصیت برای اندازه‌گیری غلظت آن‌ها استفاده می-گردد. جذب نوری DNA دو رشته‌ای کمتر از DNA تک رشته‌ای و DNA تک رشته‌ای کمتر از نوکلئوتیدهای آزاد است.

نکته : ترتیب جذب نوری نوکلئوتیدها بدین صورت است: A>G>U>T>C

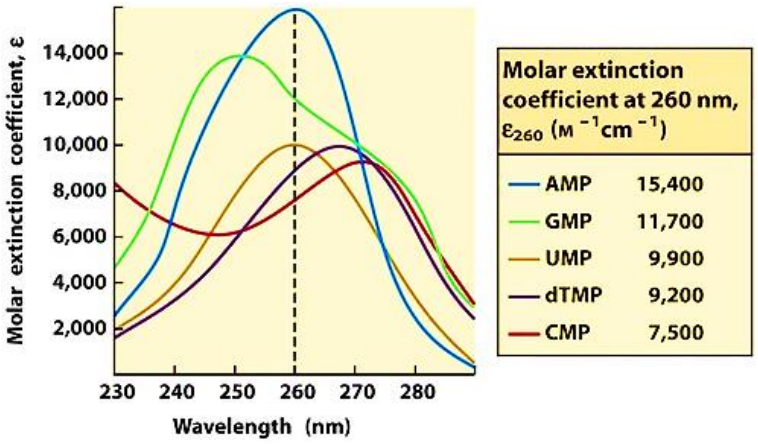
G و پس از آن U حداکثر جذب نوری را در طول موج‌های پائین دارند.



تصویر. ساختار نوکلئوتید



تصویر. ساختمان بازهای پورین و پیریمیدین در اسیدهای نوکلئیک



تصویر. ترتیب جذب نوری نوکلئوتیدهای DNA

در ساختمان DNA به جای قند ریبوز، قند داکسی ریبوز به کار می‌رود. داکسی ریبوز در موقعیت ′2 خود فاقد گروه هیدروکسیل (OH) است و چون گروه OH در قند ریبوز گروه فعالی است و قادر به حمله به سایر مولکول‌ها و خودش است می‌تواند خود را هیدرولیز کند ، بنابراین RNA نسبت به DNA ناپایدارتر است. آرایش بازهای پیریمیدینی همیشه به صورت Anti ولی پورین‌ها در بعضی شرایط (در ساختمان Z-DNA) به صورت Syne هستند. در پیریمیدین ازت موقعیت 1 بازهای پیریمیدین با کربن ′1 قند پنج کربنه و در پورین ازت موقعیت 9 بازهای پورین با کربن ′1 قند پنج کربنه اتصال N– گلیکوزیدی برقرار می‌کند. (سودویوریدین پیریمیدنی است که ازت موقعیت 5 باز یوراسیل آن با کربن موقعیت ′1 قند پنج کربنه پیوند برقرار می‌کند).

ساختار دوم DNA همان ساختار دو رشته‌ای مارپیچی است که توسط واتسون و کریک (1953) پیشنهاد شد. البته تلاش‌های خانم رزالین فرانکلین[1] نقش بسیار تعیین‌کننده‌ای در درک ساختار دوم DNA داشت. در این ساختار دو

[1] Rozalind franklin

رشته موازی و ناهمسو در کنار همدیگر قرار گرفته‌اند که بازهای آلی در درون مارپیچ و قندهای داکسی ریبوز و گروههای فسفات در بیرون از مارپیچ قرار گرفته‌اند.

در DNA دو رشته ای علاوه بر پیوندهای هیدروژنی بین بازهای آلی (A=T و C≡G) که باعث پایداری DNA می‌شوند نیروهایی موسوم به **نیروهای فشردگی بازها**[1] نیز در پایداری دو رشته DNA نقش اساسی دارند که این نیرو همان برهم کنش های آبگریز بازهای آلی در داخل مارپیچ DNA است.

B-DNA : معمول‌ترین شکل DNA در داخل سلول B-DNA است که شکل اصلی DNA در سلول بوده و پایدارترین شکل DNA می‌باشد. این شکل DNA همان ساختاری بود که توسط واتسون و کریک پیشنهاد شد و به صورت راست گرد است که در هر پیچ آن 10 جفت نوکلئوتید وجود دارد. علاوه بر B-DNA اشکال دیگری از DNA نیز وجود دارند:

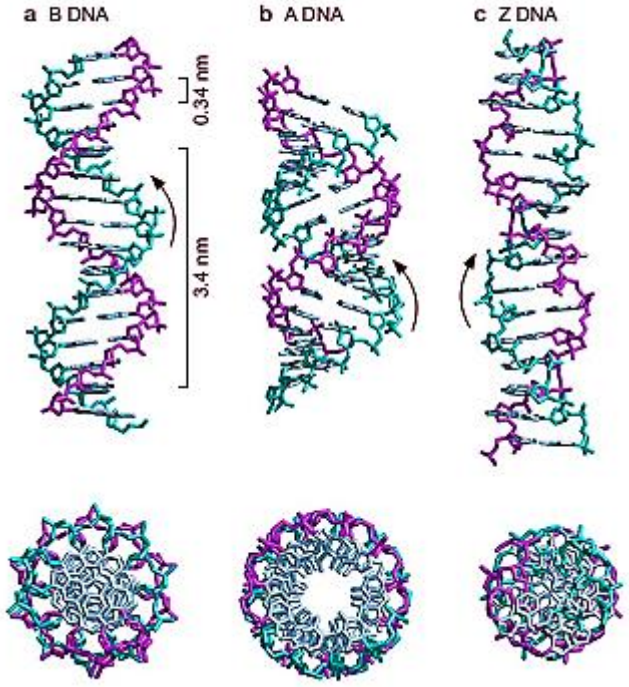
A-DNA : این نوع DNA در شرایط دهیدراته (محلول‌های تهی از آب) از B-DNA تشکیل می‌گردد A-DNA متراکم‌ترین و قطورترین شکل DNA است که در هر مارپیچ آن 11 جفت نوکلئوتید قرار دارد. این DNA نیز مانند B-DNA به صورت راست گرد است. هیبرید RNA- DNA یا RNA- RNA ساختاری شبیه A-DNA پیدا می کند.

Z-DNA : این نوع DNA باریک و بلند بوده که در هر مارپیچ آن 12 جفت نوکلئوتید قرار دارد. به صورت چپ گرد است و در نواحی غنی از GC یا 5- متیل سیتوزین تشکیل می‌شود. آرایش پیریمیدین‌ها به صورت Anti و پورین‌ها به صورت Syne می باشد. در Z-DNA چون گروه های فسفات بسیار به همدیگر نزدیک شده‌اند بنابراین برای خنثی کردن اثر دافعه آنها نمک زیادی مورد نیاز است. بدلیل اینکه شیار بزرگ آن مسطح بوده و شیار

[1] Base stacking

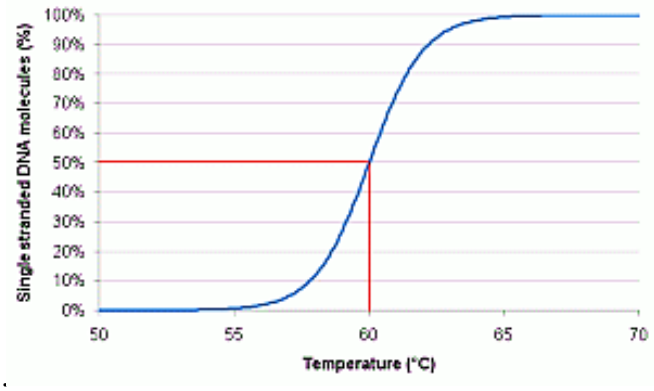
کوچک آن باریک و عمیق است تک شیاری به نظر می‌رسد و شکل زیگزاگی (Z) به خود می‌گیرد. Z-DNA دارای نقش زیستی مهمی است و به وفور در نواحی نزدیک به پروموتر وجود دارد و سبب تحریک رونویسی می شود. در بدن می تواند برعلیه Z-DNA آنتی بادی ساخته می‌شود (در بیماری‌های خود ایمنی)

نوع DNA	B-DNA	A-DNA	Z-DNA
نوع چرخش	راست گرد	راست گرد	چپ گرد
طول هر مارپیچ	34 A	28 A	38 A
تعداد بازها در هر پیچ	10	11	12
آرایش پیوند گلیکوزیدی	Anti	Anti	Anti برای پیریمیدین ها Syn برای پورین ها
فاصله بین دو جفت باز	3/4 A	2/5 A	3 A



تصویر. اشکال مختلف DNA

DNA در شرایط PH قلیایی (حضور اوره) و دمای بالا و نیز حضور فرامید دو رشته آن از همدیگر باز می‌شود و به اصطلاح دناتوره (Denature) می‌گردد. دمایی که در آن نصف مولکول DNA دناتوره می‌شود نقطه ذوب (Tm) می‌گویند. به عبارت دیگر Tm دمایی است که در آن نصف مولکول دو رشته‌ای DNA به حالت تک رشته‌ای درآمده باشد که به محتوای GC ، طول دورشته DNA و نیز غلظت کاتیون‌های تک ظرفیتی (Na) در اطراف DNA بستگی دارد. هر چقدر این فاکتورها بیشتر باشند Tm مولکول DNA افزایش می یابد. اما ترکیباتی مثل اوره و فرامید با شکستن پیوندهای هیدروژنی سبب کاهش Tm مولکول DNA می شوند. زمانی که DNA دورشته ای دناتوره شده و تک رشته ای می گردد به تدریج جذب نوری آن نیز افزایش می یابد (اثر هایپرکرومیک)

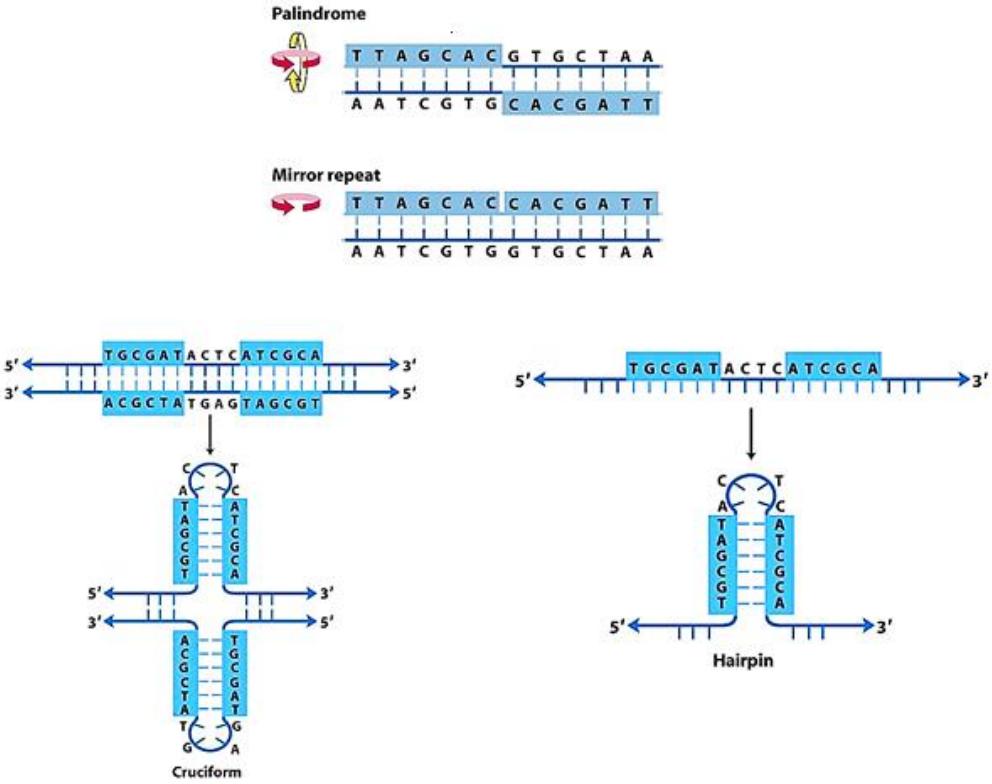


تصویر. دمای واسرشته سازی DNA (Tm)

اشکال فضایی DNA

برخی ساختارهای فضایی در DNA بدلیل وجود توالی‌های خاصی مانند توالی‌های پالیندروم ، تکرارهای آینه‌ای، بسط‌های پورین-پیریمیدین و یا توالی‌های غنی از GC شکل می‌گیرد. پالیندروم ها توالی‌های دارای تقارن دو طرفه در DNA می‌باشند که از هر دو رشته و در یک جهت خاص به یک شکل خوانده می‌شوند (مانند جایگاه برش

آنزیم EcoRI ، '5 GAATTC 3') . این توالی‌ها در DNA دو رشته‌ای ایجاد شکل صلیب یا برگ شبدری[1] میکنند. ولی زمانی که فقط در یک رشته (مانند RNA) توالی تکراری معکوس باشند ساختار سنجاق سری[2] تشکیل می-گردد.



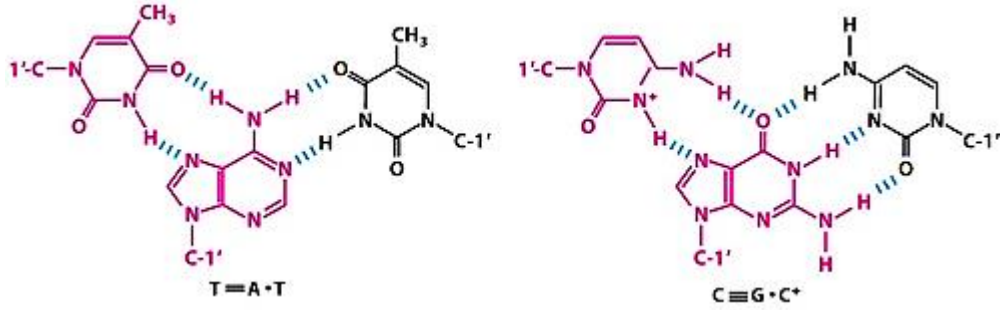
تصویر. ساختارهای فضایی DNA

نکته : **گره‌کاذب (Pseudoknockt)** همان ساختار سوم mRNA است که به دلیل پیوند های داخلی در مولکول تک رشته RNA تشکیل می شود.

[1] Cruciform
[2] Hairpin

DNA سه رشته‌ای (H- DNA)

این ساختار DNA در بسط‌های پورین-پیریمیدین تشکیل می‌شوند که PH اسیدی برای شکل‌گیری آن مهم است. در این حالت جفت بازهای C و G در شرایط خاصی می‌توانند با یک C پروتونه دیگر نیز پیوند برقرار کنند. همچنین جفت بازهای A و T می‌توانند با یک T دیگر پیوند برقرار کنند. در این شرایط یک DNA سه رشته ای به وجود می آید که بازها در دو رشته با مدل طبیعی واتسون – کریک و در رشته سوم با پیوند **هوگستن** شرکت می کنند که در آن N7 حلقه ایمیدازول در پیوند شرکت می کند و با اتصال به DNA دو رشته ای سبب تشکیل H-DNA می گردد (شکل زیر).



DNA چهار رشته‌ای

این ساختار DNA نیز در نواحی غنی از GC تشکیل می گردد و معمولاً به دو صورت در نواحی تلومری و قسمت های دیگر کروموزوم ظاهر می شود:

1– Guanosin Tetraplex یا G-DNA : در نواحی غنی از گوانین تشکیل می‌شود. عمدتا در نواحی تلومری تشکیل می شود. زمانی که تلومرهای دو کروموزوم از محل تکرارهای G با هم ارتباط برقرار کنند G Tetraplex را به وجود می آورند. همچنین این تترادها در داخل یک DNA دورشته ای و در محل تکرارهای G نیز می تواند تشکیل شود. برای پایداری این ساختار حضور کاتیون های تک ظرفیتی مثل سدیم و نیکل مورد نیاز است.

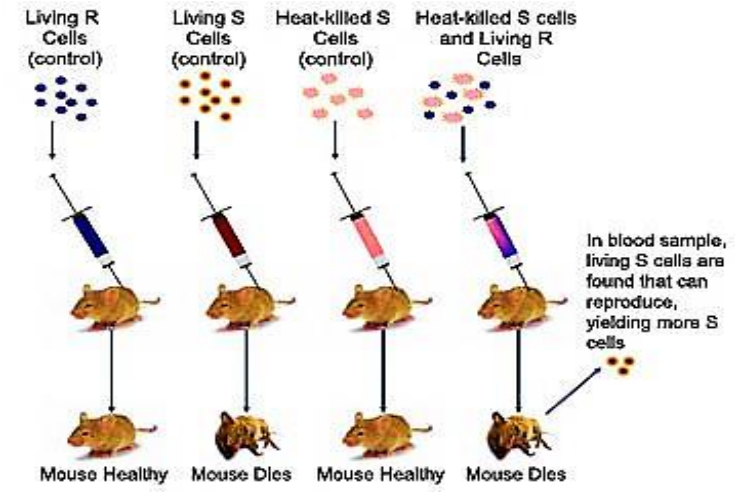
2– Cytosine Tetraplex یا I-DNA : DNA چهاررشته ای که در نواحی غنی از سیتوزین تشکیل می‌شود.

قبلا تصور می شد که پروتئین عامل توارث در موجودات زنده است ولی دو آزمایش زیر تایید کرد که DNA عامل توارث در موجودات زنده است نه پروتئین و ژن ها از DNA ساخته شده اند.

آزمایش گریفیت[1]

گریفیت مشاهده کرد زمانی که باکتری استرپتوتوکوک پنومونیه کشنده موش یا سروتایپ S (کپسول دار) را با حرارت تیمار کند و عصاره آن را به موش تزریق کند موش نمی میرد. ولی زمانی که عصاره سلولی این باکتری کشنده به همراه سروتایپ غیر بیماری زا یا R (بدون کپسول) با هم به موش تزریق می شود پس از چند روز باکتری می میرد. نتایج نمونه گیری از خون موش های مرده نشان داد تعدادی از باکتری های غیر بیماریزا و بدون کپسول ، کپسول دار شده اند که به آن "تبدیل باکتریایی[2]" می گویند. بعدها اوسوالد اوری[3] و همکارانش نشان دادند که عامل ترانسفورمه کننده مولکول DNA است که با انتقال به باکتری بدون کپسول آن را به باکتری کپسول دار و بیماریزا تبدیل می کند (تصویر زیر).

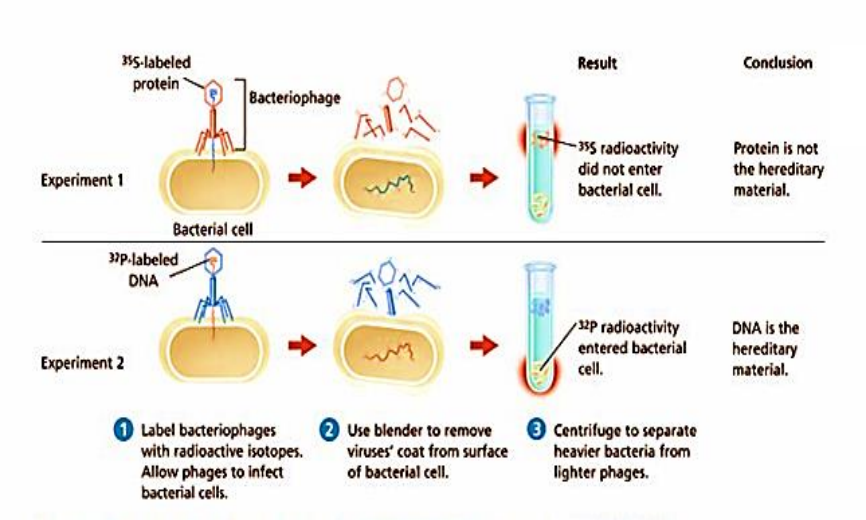
تصویر. آزمایش گریفیت



[1] Griffith
[2] Bacterial transformation
[3] Oswald avery

آزمایش آلفرد هرشی[1] و مارتا چیس[2]

آنان DNA فاژ T2 را با ^{32}P و پروتئین های پوششی آن را با ^{35}S نشان دار کردند. پس از آلودگی باکتری با فاژ و ردیابی DNA و پروتئین های نشان دار به این نتیجه رسیدند که به هنگام آلودگی باکتری DNA فاژ وارد باکتری شده ولی پروتئین وارد نمی شود. در واقع DNA مسئول ساختن پیکره های جدید فاژ است (تصویر زیر).



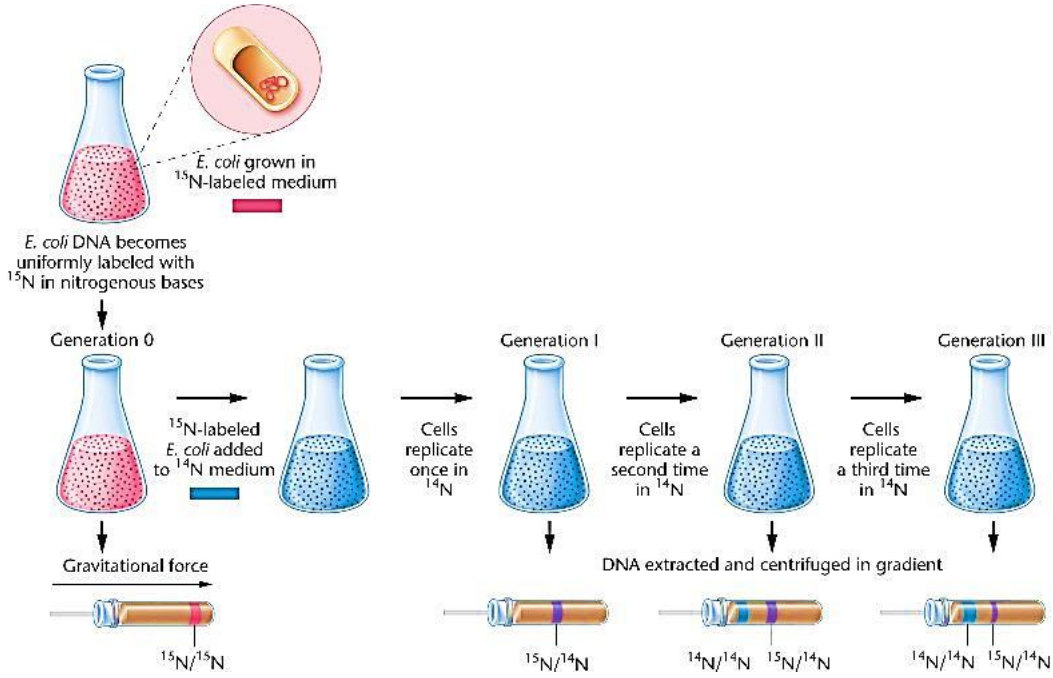
تصویر. آزمایش آلفرد هرشی و مارتا چیس

همانند سازی DNA

همانندسازی DNA به روش نیمه حفاظتی[3] صورت می گیرد که اولین بار توسط مزلسون- استال[4] تأیید گردید. در این حالت هر یک از دو رشته DNA به صورت جداگانه به عنوان الگو برای سنتز رشته جدید مورد استفاده قرار می گیرند. آنان ابتدا DNA را در محیط کشت حاوی ازت سنگین کشت دادند و بعد از تقسیم باکتری DNA آن را بوسیله سانتری فیوژ با شیب چگالی سزیم – کلراید جدا کرده و موقعیت آن را در لوله مشخص کردند. سپس

[1] Alfred hershey
[2] Martha chase
[3] Semiconservative replication
[4] Meselson - stahl

باکتری را به محیط کشت حاوی ازت سبک منتقل نمودند و اجازه دادند یک تقسیم باکتری تکمیل گردد. DNA حاصل از تکثیر باکتری را بوسیله سانتری فیوژ با شیب چگالی سزیم-کلراید جداسازی کردند. نتیجه آن فقط یک باند را در موقعیت وسط نشان می داد. پس از تکمیل یک نسل دیگر دوباره نتیجه را با سانتری فیوژ بررسی کردند این بار یک باند DNA جدید در موقعیت ازت سبک دیده شد و بتدریج که تقسیمات باکتری بیشتر می شد بر غلظت DNA با دو رشته حاوی ازت سبک بیشتر می شد بنابراین نتیجه گرفتند همانندسازی به صورت نیمه حفاظتی است و DNA تازه سنتز شده دارای یک رشته قدیمی و یک رشته جدید خواهد بود. (تصویر زیر).



سوال- اگر باکتری رشد کرده در محیط کشت حاوری ازت سنگین را به محیط کشت حاوی ازت سبک منتقل کنیم پس از سه نسل چه نسبتی از مولکول های DNA ساخته شده دارای هر دو رشته سبک خواهند بود؟

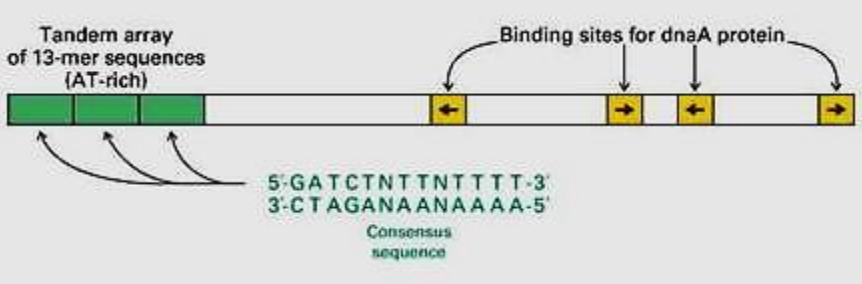
پس از سه نسل ، هشت مولکول DNA دو رشته ای ساخته خواهد شد که بدلیل همانندسازی نیمه حفاظتی دو مولکول دارای یک رشته سنگین و یک رشته سبک و شش مولکول DNA دارای هر دو رشته سبک خواهند بود.

انواع حالت‌های مختلف همانندسازی نیمه حفاظتی وجود دارد به عنوان مثال **همانندسازی با جابجایی یا D-loop** در میتوکندری ، **همانندسازی تتا (θ)** در باکتری و **همانندسازی دایره غلتان**[1] در باکتریوفاژها. سنتز DNA همواره در جهت 3' → 5' صورت می گیرد.

شروع همانندسازی به صورت تصادفی صورت نمی‌گیرد و همواره در ناحیه‌های خاصی از DNA به نام مبدأهای همانندسازی (Origin of replication= Ori) صورت می‌گیرد. یک ژنوم حلقوی باکتریایی فقط دارای یک ناحیه شروع همانندسازی یا OriC دارد در صورتیکه ژنوم خطی یوکاریوتها چندین ناحیه Ori دارند که هر 80-20 ناحیه Ori را یک خوشه همانندسازی[2] می‌گویند. پس از شناسایی جایگاه شروع همانندسازی ، DNA دو رشته ای در آن ناحیه باز می شود و ایجاد یک حباب همانند سازی[3] و یا چنگال همانندسازی[4] (زمانی که نصف حباب ایجاد شده را در نظر بگیرند به آن چنگال همانندسازی می گویند) می کند. سپس یک سری پروتئین ها بلافاصله به تک رشته های DNA متصل شده و مانع از اتصال دوباره آن ها به هم می شوند که به آن ها پروتئین های متصل شونده به تک رشته (SSBP[5]) می گویند. در باکتری ها ناحیه Ori شامل چهار تکرار تکرار 9 نوکلئوتیدی (- 5'- TTATCCACA 3') و سه تکرار 13 نوکلئوتیدی (3- GATCTNTTNTTTT -5') است که به ترتیب Recognition site و Open region نامیده می شوند. پروتئین های DnaA تکرارهای 9 نوکلئوتیدی را شناسایی می کنند و در این ناحیه به

[1] Rolling circle
[2] Replication unit
[3] Replication bubble
[4] Replication fork
[5] Single strand binding protein

DNA متصل می شوند. اتصال پروتئین های DnaA به این توالی های حفاظت شده 9 نوکلئوتیدی سبب پیچش DNA و باز شدن دو رشته آن در محل توالی های 13 نوکلئوتیدی می شود چون این توالی ها غنی از A-T می باشند که پیوند هیدروژنی ضعیف تری دارند.

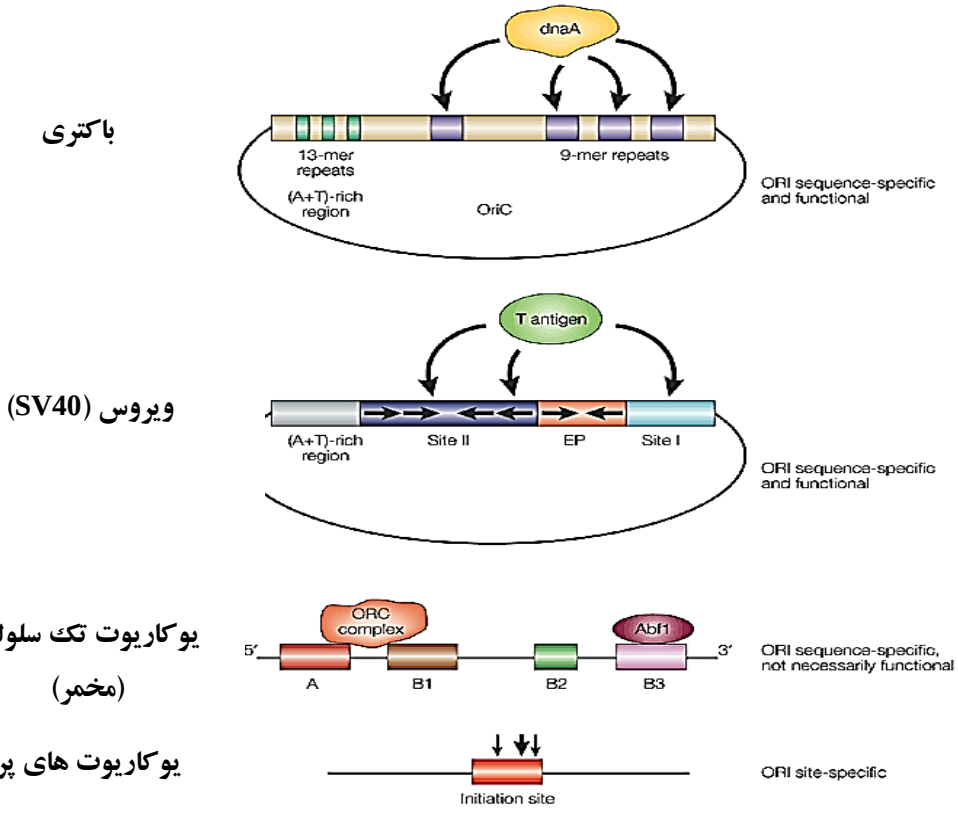


تصویر. جایگاه شروع همانندسازی در پروکاریوت ها

آنزیم هلیکاز (DnaB در باکتری ها) در بالادست کمپلکس همانندسازی قرار گرفته و با شکستن پیوندهای هیدروژنی بین نوکلئوتیدها دو رشته DNA را از هم باز می کند. برای شروع همانندسازی وجود یک توالی کوتاه از جنس RNA بنام پرایمر ضروری است. سنتز پرایمرها توسط آنزیم پرایماز (یک RNA پلیمراز وابسته به DNA) از روی توالی DNA صورت می گیرد. پیچش های DNA در بالادست حباب همانندسازی توسط آنزیم های توپوایزومراز باز می شوند. دو نوع توپوایزومراز I و II وجود دارد که توپوایزومراز I یکی از رشته ها را برش داده و برای فعالیت خود به ATP نیاز ندارد ولی توپوایزومراز II در دورشته DNA ایجاد برش می کند و برای فعالیت خود به ATP نیاز دارد مانند DNA جایرز[1]، این ATP برای تغییر شکل فضایی آنزیم مورد استفاده قرار می گیرد. به

[1] DNA gyrase

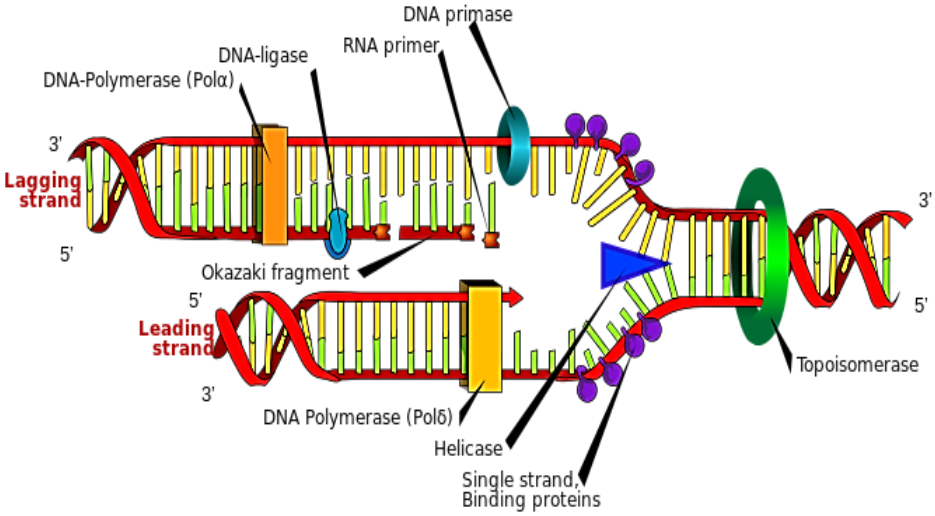
مجموعه پروتئین ها و عواملی که در چنگال همانندسازی فعالیت می کنند ریپلیزوم[1] می گویند. جایگاه شروع همانندسازی در یوکاریوت ها توسط یک کمپلکس همانندسازی شناسایی می شود که قبل از شروع همانندسازی تشکیل می شود. به این کمپلکس پروتئینی ORC[2] می گویند (تصویر زیر) که به همراه چند پروتئین دیگر (Cdc6، Cdt1 و MCM 2-7) کمپلکس پیش از همانندسازی[3] را تشکیل می دهند.



همانندسازی همواره از روی یکی از رشته‌های DNA (3'→5') به صورت ممتد و پیوسته صورت می‌گیرد که به این رشته سنتزشده ممتد رشته پیشرو (Leading strand) می‌گویند و در رشته دیگر به شکل ناپیوسته و تکه تکه صورت

[1] Replisome
[2] Origin of replication complex
[3] Pre-replication complex

می‌گیرد که به آن رشته پیرو (Lagging strand) می‌گویند. در رشته پیرو قطعات ناپیوسته DNA را بنام قطعات اُکازاکی[1] می‌شناسند که طول آن‌ها در پروکاریوتها 1000-2000 bp و در یوکاریوتها بین 100-200 bp می‌باشد. تعداد قطعات اکازاکی در همانندسازی DNA یوکاریوت ها بیشتر از پروکاریوت ها است.



تصویر. همانندسازی در یوکاریوت ها. DNA پلیمراز آلفا در همانندسازی رشته Lagging و DNA پلیمراز دلتا در همانندسازی رشته Leading نقش دارند.

نکته : مخمر ساکارومایسس سرویزیه در حدود 332 ناحیه Ori دارد که به طور متوسط 36 kb از DNA برای هر مبدأ همانندسازی است. انسان حدود 2000 ناحیه Ori دارد که هر یک به طور متوسط حدود 50 kb از DNA را شامل می‌شوند.

DNA پلیمرازها آنزیم اصلی دخیل در همانندسازی DNA هستند و برای فعالیت خود به منیزیم نیاز دارند. در فرآیند همانندسازی نوکلئوتیدها به صورت تری فسفات وارد می‌شوند و پس از آزاد شدن دو فسفات آنها به شکل پیروفسفات، به صورت مونوفسفات در DNA قرار می‌گیرند.

[1] Okazaki fragments

مهم‌ترین پروتئین‌ها و آنزیم‌های درگیر در فرآیند همانندسازی را در جدول زیر مشاهده کنید.

نقش پروتئین یا آنزیم در همانندسازی	پروکاریوت‌ها	یوکاریوتها
شناسایی ناحیه Ori	DnaA	ORC
باز کردن دو رشته DNA (هلیکاز)	DnaB	MCM
اتصال به تک رشته DNA و پایدار کردن آن	SSBp	RPA
سنتز پرایمر (پرایماز)	DnaG	پرایماز
DNA پلیمرازها	III , II , I	$\theta,\varepsilon,\partial,\gamma,\beta,\alpha$
باز کردن پیچ‌های DNA	توپوایزومرازهای II , I	توپوایزومرازهای I
اتصال قطعات اکازاکی به هم‌دیگر	DNA لیگاز (کوفاکتور: NAD)	DNAلیگاز (کوفاکتور: ATP)

به مجموعه DnaB (هلیکاز) و DnaG (پرایماز) و یک سری پروتئین های دیگر در باکتریها **پرایموزوم** می‌گویند.

فعالیت DnaB وابسته به DnaC است.

DNA پلیمرازهای باکتریایی

DNA پلیمراز I

نقش اصلی آن برداشتن پرایمرها و پر کردن جای آنها با داکسی ریبونوکلئوتیدها است. دارای خاصیت غلط گیری است (Proofreading) و در ترمیم DNA نقش دارد. تنها DNA پلیمراز باکتریایی است که خاصیت اگزونوکلئازی 5'→3' (برداشتن پرایمرها) دارد. در محیط آزمایشگاه توسط پروتئازها به 1 قطعه بزرگ (قطعه Klenow) با خاصیت DNA پلیمرازی 5'→3' و اگزونوکلئازی 5'→3' (غلط گیری[1]) و 1 قطعه کوچکتر با خاصیت اگزونوکلئازی 5'→3'

[1] Proofreading

تجزیه می‌گردد. این آنزیم در روش جابجایی شکاف (Nick translation) برای نشان دار کردن پروب نیز نقش دارد.

DNA پلیمراز II

دارای خاصیت پلیمرازی و غلط‌گیری است ولی فاقد توانایی برداشت پرایمر (اگزونوکلئازی '3→'5) است. این آنزیم در واکنش به فرایند ترمیم SOS (ترمیم مستعد خطا) که جزو رویدادهای ترمیم بعد از همانندسازی DNA است فعال می‌گردد.

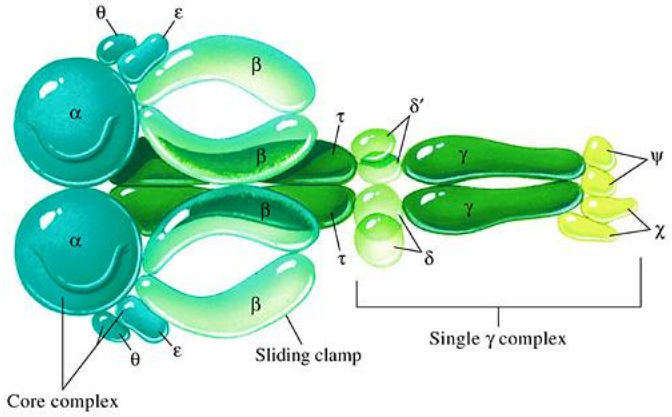
DNA پلیمراز III

آنزیم اصلی همانندسازی باکتریایی است که دارای خاصیت پلیمرازی و غلط‌گیری است (تمام DNA پلیمرازهای باکتریایی دارای فعالیت غلط‌گیری (Proofreading) هستند). این آنزیم به صورت کمپلکس عمل می‌کند و حداقل 10 زیر واحد دارد که دارای اعمال زیر هستند:

نام زیر واحد	ژن کد کننده	تعداد در هولوآنزیم	عملکرد
α	PolC (dnaE)	2	نقش اصلی پلیمریزاسیون
ε	DnaQ (mutD)	2	دارای نقش اگزونوکلئازی ′3 به ′5 (فعالیت غلط گیری یا proofreading)
θ	HolE	2	کمک به فعالیت غلط گیری و ترمیم ε
β	DnaN	4	به عنوان گیره (Rolling clamp) برای نگهداری DNA الگو عمل می کند. سبب تسهیل حرکت آنزیم بر روی DNA می گردد
γ	DnaX	2	به عنوان کمپلکس Clamp-loading عمل می کنند و سبب بارگذاری زیرواحد β بر روی رشته پیرو (lagging) می شود تا قطعات اکازاکی ساخته شوند.
δ	HolA	1	
δ′	HolB	1	
χ	HolC	1	
ψ	HolD	1	
τ	DnaX*		سبب دایمریزه کردن Core complex (α، ε و θ) می گردد.

*X: زیرواحد γ از روی قسمتی از ژن کد کننده زیرواحد τ ساخته می شود.

به مجموعه زیرواحدهای α ، θ و ε **کمپلکس مرکزی (core complex)** و به زیرواحد β **گیره کشویی (sliding clamp)** می گویند. (تصویر زیر). زیر واحد ψ از طریق بر هم کنش با SSBP (پروتئین‌های متصل شونده به تک رشته DNA) عمل خود را انجام می دهد.



تصویر. ساختار DNA پلیمراز III در پروکاریوت ها

همانندسازی باکتری ها از یک ناحیه و در دو جهت مخالف شروع می شود و با پیشرفت همانندسازی ، کروموزوم حلقوی باکتری به شکل ساختاری شبیه حرف تتا (θ) در می آید. این ساختار تتا شکل در همانندسازی ژنوم های حلقوی که دارای یک ناحیه Ori هستند دیده می شود. در نهایت با رسیدن کمپلکس همانندسازی به ناحیه خاتمه همانندسازی ، ساختاری شبیه حرف هشت انگلیسی (8) ایجاد می شود که به آن کاتنان[1] می گویند که شامل دو مولکول DNA حلقوی دو رشته ای است که در یک محل به هم متصل مانده اند. جدا کردن آن ها از همدیگر (دکاتناسیون) در باکتری ها توسط توپوایزومراز IV انجام می گیرد. فرایند دکاتناسیون در یوکاریوت ها توسط توپوایزومراز II صورت می گیرد.

[1] Catenane