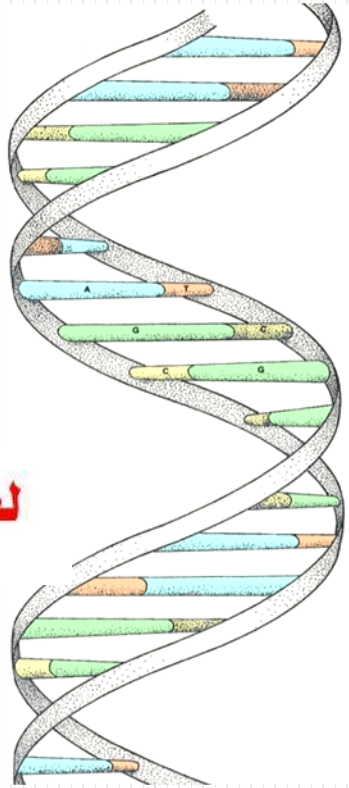
Sohag University
Faculty of Agriculture
Department of Genetics

بسم الله الرحمن الرحيم

Molecular Genetics

الوراثة الجزيئيه

لطلاب المستوى الثانى – برنامج التكنولوجيا الحيويه



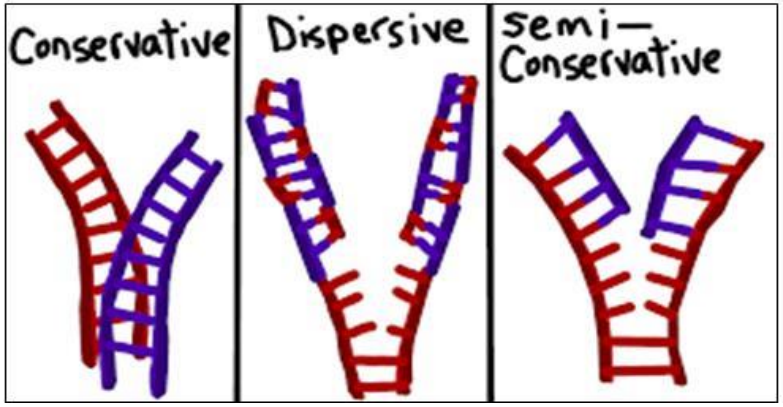
Prof. Dr. Abdelsabour G. A. Khaled

تضاعف المادة الوراثية DNA Replication

1. **الطريقة المحافظة conservative**: فى هذه الطريقة يبقى جزئ الـ DNA القديم بدون تغيير ويتكون جزئ جديد وعند الانقسام تتسلم إحدى الخليتين الجزئ القديم وتتسلم الخلية الأخرى الجزئ الجديد.
2. **الطريقة الغير محافظة non conservative**: فيها يحدث تكسير لجزئ الـ DNA إلى قطع صغيرة عند بداية تضاعفه ثم تتوزع القطع القديمة متخلله للقطع المتكونه حديثا وعند الانقسام تتسلم كل خلية جزئ من الـ DNA تختلط فيه القطع القديمة والجديدة.
3. **الطريقة شبه المحافظه semi conservative**:

Crick & Watson إقترحا أن الروابط الهيدروجينية تبدأ فى الانصهار تدريجيا فتنفصل السلسلتين عن بعضهما .وفى نفس الوقت تعمل كل سلسلة كقالب لبناء السلسلة الجديدة الأخرى المكملة لها فتعود بذلك الحالة المزدوجة حيث يقوم الأدنين بجذب الثيمين أو العكس ($A = T$)بينما يقوم الجوانين بجذب السيتوسين أو العكس .($G \equiv C$)وبذلك نحصل عل جزيئين من الـ DNA بكل منهما سلسلة جديدة وبعد الانقسام **تتسلم إحدى الخليتين سلسلة قديمة وأخرى جديدة وتتسلم الخلية الأخرى أيضاً سلسلة قديمة وسلسلة جديدة**

ولذلك فإن طريقة التكاثر هذه تسمى بالطريقة نصف المحافظة semi conservative.

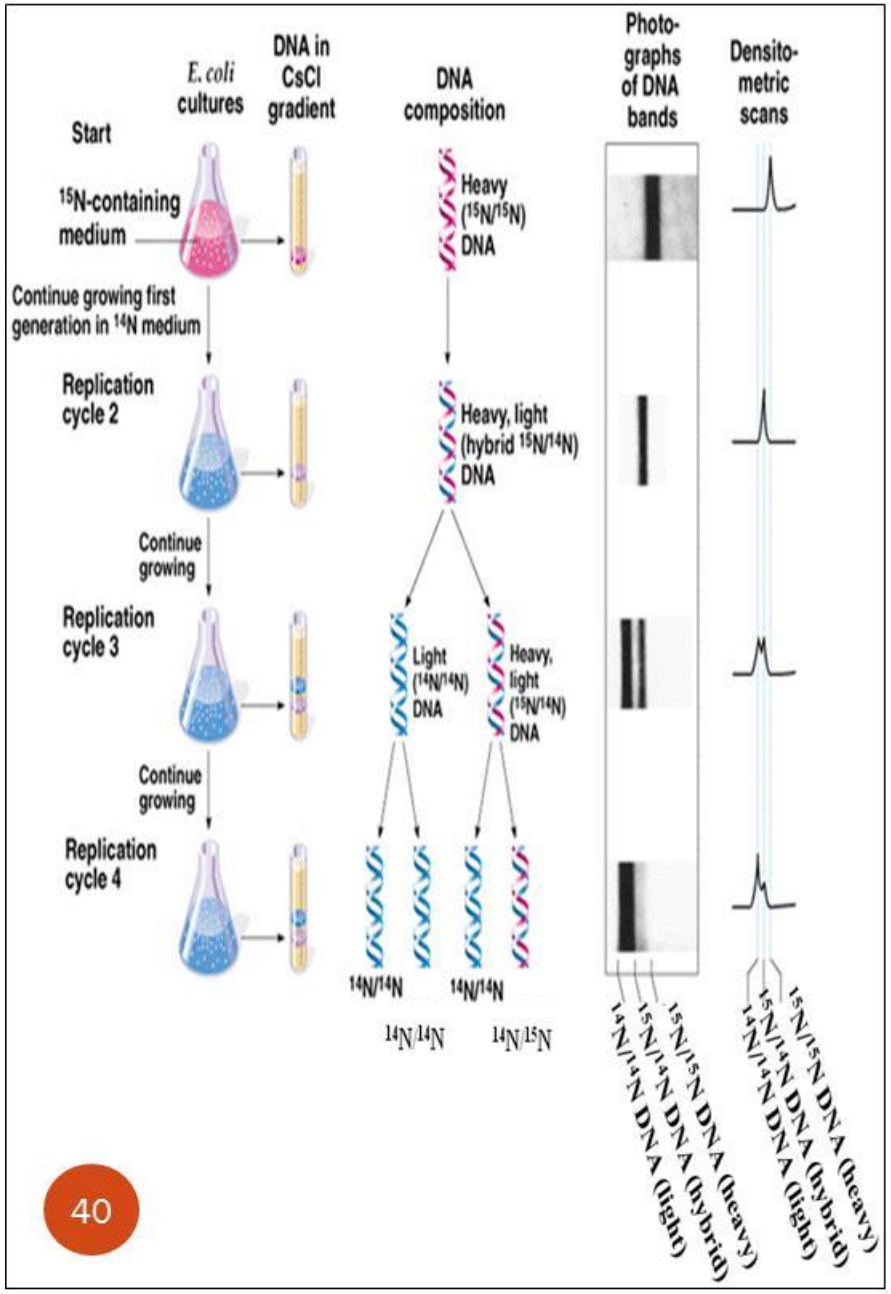


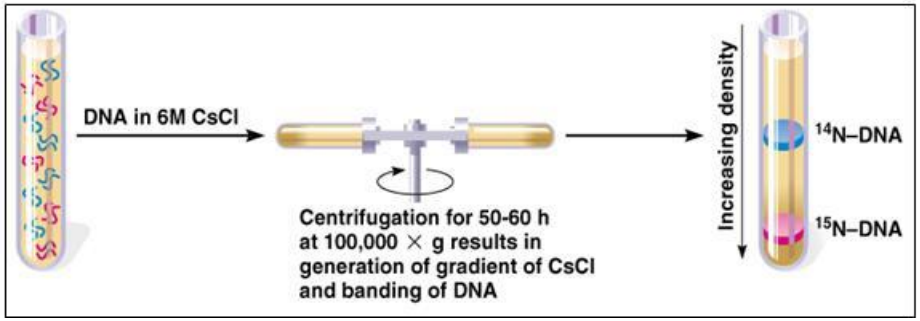
تجربة ميسلسون وستال 1985

- تنمية *E.coli* لعدة أجيال على بيئة غذائية تحتوى على ملح كلوريد الامنيوم $N^{15}H_4C$ الذي يحتوي على N^{15} سوف يستخدم في بناء البروتين والأحماض النووية.

1. عزل الـ DNA الخلايا البكتيريه المتكونه واعتبارها جيل الأباء G0 ونقل البعض الآخر إلى وسط غذائي فيه مصدر N^{14} حيث تترك البكتريا للتكاثر لجيل واحد فقط، بحيث تنقسم كل خلية مرة واحدة مكونة خليتين جديدتين.
2. عزل الـ DNA من بكتريا القولون عاديه وأخرى نُميت لعدة أجيال فى بيئة N^{15} وكذلك من خلايا بكتريا القولون التى نقلت و نميت على بيئة N^{14} لمدة طويله لجيل واحد فقط.

- عمل طرد مركزي للعينات الثلاث من الـ DNA فى وسط من كلوريد السيزيوم CsCl





تضاعف المادة الوراثية فى الكائنات أولية النواه

منشأ التضاعف replication origin

- تضاعف الـ DNA فى الكائنات الأولية تحتوى على حلزون مزدوج (يبدأ من الداخل وليس من عند طرف سلسلتى الـ DNA كما كان متوقعاً وذلك من نقطة واحدة ومحددة تسمى منشأ التضاعف (ori)
- لكروموسوم بكتريا القولون منشأ تضاعف واحد يوجد على موقع رقم 82 أو 83 على الخريطة الكروموسومية تتكون عنده شوكة التضاعف replication fork.

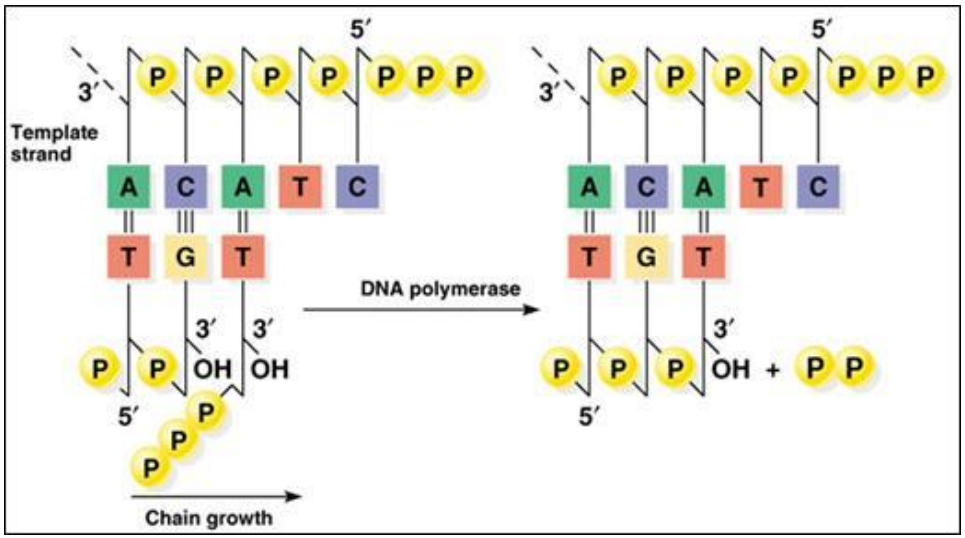
إتجاه التضاعف replication direction

- كلا السلسلتين الجارى بناؤهما على كل من شوكتى التضاعف لابد أن تكونا أيضا متضادتين فى الإتجاه . لكن من المعروف أن الإتجاه العام للتناسخ هو 5 ← 3
- جميع إنزيمات بناء الـ dna **DNA polymerases** المعروفة حتى الآن التى تشارك فى إضافة النيوكليوتيدات الجديدة نتعمل على نمو واستطالة السلسلة الجديدة فى الإتجاه **3** ← **5** لأن التفاعل الكيماوى التى تساعد فيه هذه الإنزيمات يسمح للنيوكليوتيده ثلاثية الفوسفات من التفاعل مع مجموعة (3'- OH) ،
- الذى يوفر هذا الطرف الحر هو البادئ Primwe
- امكن للعالم اليابانى Okazaki سنة 1969من إكتشاف قطع صغيرة من الـ DNA تم بنائها فى الإتجاه 5 ← 3 على الخيط القديم ذو الإتجاه 5' ← 3' عرفت بإسم قطع أو Okazzaki fragments والتى كانت بطول حوالى (1000 – 2000) نيكليوتيده.

- هذا ولقد تأكد أن Okazaki fragments عبارة عن نواتج أولية للسلسله ذات الإتجاه 5' إلى 3' وهى التى **تنمو بشكل متقطع من الداخل إلى الخارج،**
- **إتجاه البناء ذاته لا يتغير فهو دائما من** 5' ← 3' **(من الإتجاه الأعلى للأقل).**
- أما السلسلة ذو الإتجاه **3' إلى 5'** والتى تسمى بالقالب، يتم بناء الخيط الجديد عليها بطريقة مستمرة وغير متقطعة من البداية إلى النهاية فى الإتجاه من 5 إلى 3 .
- بالإضافة إلى ذلك فإن السلسة أو الخيط الجديد ذو الإتجاه 5 ← 3 عادة تكون سريعة فى معدل بنائها وتسبق الخيط المتقطع مما أدى إلى تسمية هذا الخيط بالخيط القائد leading strand بينما يسمى الخيط المتقطع بالخيط التابع أو البطئ lagging strand ونتيجة لوجود فرق فى سرعة البناء بين الخيطين
- فإن ذلك يؤدى إلى ظهور منطقة صغيرة من الـ DNA الأب فى صورة أحادية السلسلة عند شوكة التناسخ ثم تصبح مزدوجة السلسلة عند بدء ظهور شظية أوكازاكى جديدة وإلتحامها بالشظية السابقة لها فى وجود إنزيم اللحم ligase

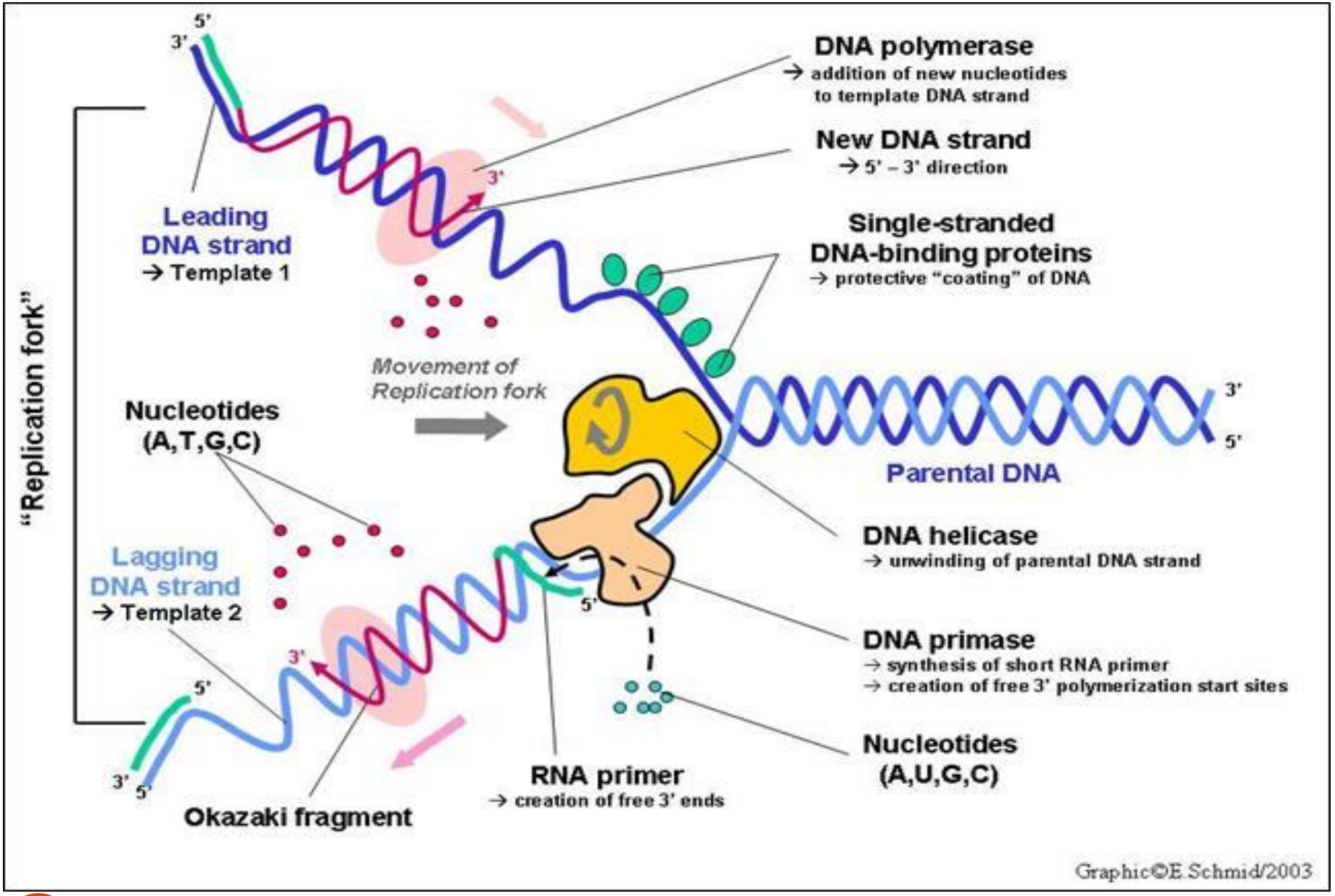
البادئ Primer

- إنزيمات ***DNA polymerases*** لا تستطيع بدء عملية بناء سلسلة جديدة إلا إذا كانت مسبوقة ببادئ primer قصير من الـ RNA حوالى 10 bp فى بكتريا القولون
- يتم تخليق البادئ بمساعدة إنزيم RNA primase
- يجب معرفة أن الخيط القالب template Strand ذو الإتجاه 3 ← 5 يحتاج إلى بادئ واحد فقط لبدء عملية التضاعف وتكوين سلسلة جديده عليه فى الإتجاه من 5 ← 3،
- بينما الخيط الاخر المتلكأ leading strand ذو الإتجاه 5 ← 3 يحتاج إلى **أكثر من بادئ** لتضاعفه،
- **كل شظية من شظايا أوكازاكى تتكون أثناء التضاعف تحتاج إلى بادئ** RNA primer **لإتمام تكوينها.**



دور البروتينات والانزيمات فى تضاعف الـ dna:

1. يرتبط إنزيم الـ gyrase لتقليل شدة التحلزن والإلتفاف supercoiled بغرض تسهيل تضاعفه.
2. يرتبط كلا من initiator protein وإنزيم helicase بالـ DNA عند replication fork والـ DNA الغير ملتف untwisted DNA مستخدما الطاقة الناتجة من (ATP)
3. يبداء DNA primase فى الإرتباط helicase مكونا معقد البدء primosome.
4. يساعد إ الـ primase فى تخليق RNA primer بطول حوالى من 10 إلى 12 نيكليوتيده،
5. يوفر هذا البادئ طرف حر 3'-OH لإنزيم polymerase III
6. يضيف إنزيم البلمرة polymerase III النيوكليوتيدات فى الإتجاه 5 ← 3،
7. إزالة remove الـ RNA primer بمساعدة DNA polymerase I
8. فيتم تحويله إلى تتابعات من قواعد الـ DNA ويتم لحم قطع أوكازاكى المتكونه بواسطة إنزيم اللحم DNA ligase.
9. ترتبط بعض البروتينات المتخصصه (أكثر من 200 نوع) يطلق عليها proteinsبالخيط القالب template DNA أثناء هذه العمليه لمنع إزدواج خيطى الـ DNA مرة أخرى أثناء عملية التضاعف.

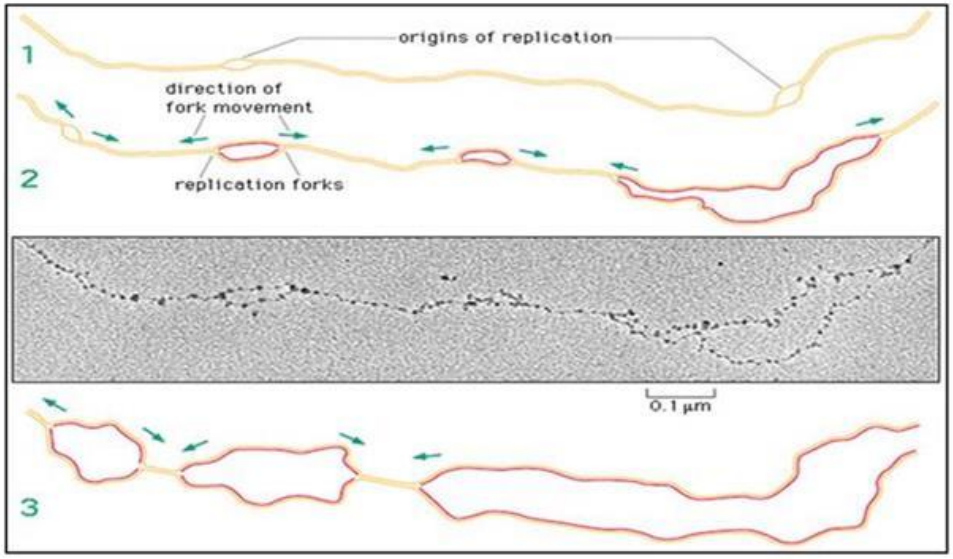

"Replication fork"
5'
3'
DNA polymerase
→ addition of new nucleotides to template DNA strand
New DNA strand
→ 5' – 3' direction
Leading DNA strand
→ Template 1
3'
Single-stranded DNA-binding proteins
→ protective "coating" of DNA
Movement of Replication fork
Nucleotides (A,T,G,C)
3'
5'
Parental DNA
DNA helicase
→ unwinding of parental DNA strand
Lagging DNA strand
→ Template 2
5'
DNA primase
→ synthesis of short RNA primer
→ creation of free 3' polymerization start sites
3'
5'
3'
5'
Nucleotides (A,U,G,C)
RNA primer
→ creation of free 3' ends
Okazaki fragment
Graphic©E.Schmid/2003

ثانيا : تضاعف الـ DNA فى الكائنات الراقية

- بعض الاختلافات الهامة والتى أمكن تلخيصها فى النقاط الأتيه:

- المادة الوراثيه فى الكائنات الراقية تُقدر بألاف الأضعاف عما هو موجود بالكائنات البدائية، ففى خلايا بكتريا القولون (طولها 0.002 mm) يبلغ طول جزئ الDNA حوالى 1.6 mm(4.7 x 10^6 bp) ، ولأن شوكة التضاعف فى الإنسان تتحرك بسرعة 50 نيوكليوتيدة فى الثانية حوالى 0,1 من السرعة التى تتحرك بها شوكة التضاعف فى البكتيريا فإن الوقت الذى يتم فيه تضاعف ال DNA الخاص بهذا الكروموسوم يستغرق حوالى 800 ساعة وهذا أمر مُستبعد
  - .لهذا السبب فإن **منشأ التضاعف فى الإنسان لابد أن يكون متعدد** وبالتالى توجد أكثر من منطقة للتضاعف replicon وتعمل شوكتى التضاعف فى الإتجاهين bidirectional فى نفس الوقت
  - أظهرت الدراسات الوراثية فى هذا المجال وجود عدد كبير من شوكات التضاعف replication forks تتحرك فى وقت واحد على كل كروموسوم فى كروموسومات الكائنات الراقية.

- تضاعف الـ DNA فى الكائنات الراقية يتم بشكل مستمر على أحد السلسلتين ويكون متقطعاً على السلسلة الأخرى مثل البكتيريا حيث تتكون على الذراع المتقطع قطع أوكازاكى والتى تكون صغيرة عن مثيلاتها فى البكتيريا حيث يتراوح طولها من 100 إلى 200 نيوكليوتيدة فقط مع العلم بأن عدد شوكات التضاعف الكثير على طول الكروموسوم يُعوض حجم هذه القطع الصغير مقارنة بالكائنات البدائية.



- يعتقد أن إنتهاء التضاعف فى الكائنات الراقية يختلف من كروموسوم إلى آخر ولكن يتم انتهاء التضاعف لكل وحدة replicon على الكروموسوم عندما تلتقى بالوحدة المجاورة لها على نفس الكروموسوم، حيث أن إنتهاء التضاعف يتم عن طريق إنزيم polymerase I حيث أنه يمنع تكوين رابطة ثنائى الفسفور بين مجموعه الـ 3'-OH فى سكر deoxyribose فى النيوكليوتيده الأخيره مع 5'- Phosphate ف والطاقة اللازمه لإتمام هذا التفاعل تستمد من إطلاق P+P من dNTP لتتحول إلى نيكليوتيدة أحادية الفسفور **dNMP** داخل السلسله الجديده.
- ويستطيع إنزيم بلمرة الـ dna DNA Polymerase إيجاد النيكليوتيده المكمله بنجاح ويقوم بالبناء بمعدل حوالى أقل من أو يساوى 800 نيكليوتيده فى الثانية الواحده ويتم التضاعف بأقل أخطاء فى ترتيب أو تكميل النيكليوتيدات فى الخيط الجديد فى الإتجاه العام للتضاعف من **5 إلى 3** .
- النظام الخلوى المسئول عن تضاعف الـ DNA فى الكائنات الراقيه يختلف عن تلك الموجود فى البكتيريا، حيث أنه حديثا تم دراسة البروتينات المعزوله من الخميره وخلايا أخرى من cultured eukaryotic cells، **لكن تفاعلات البروتين الناتج من تضاعف DNA بكتريا القولون *E.coli* غير مفهوم حتى الأن بتفاصيله الدقيقه.**

بروتين الـ DnaA يبدء التضاعف فى بكتريا القولون:

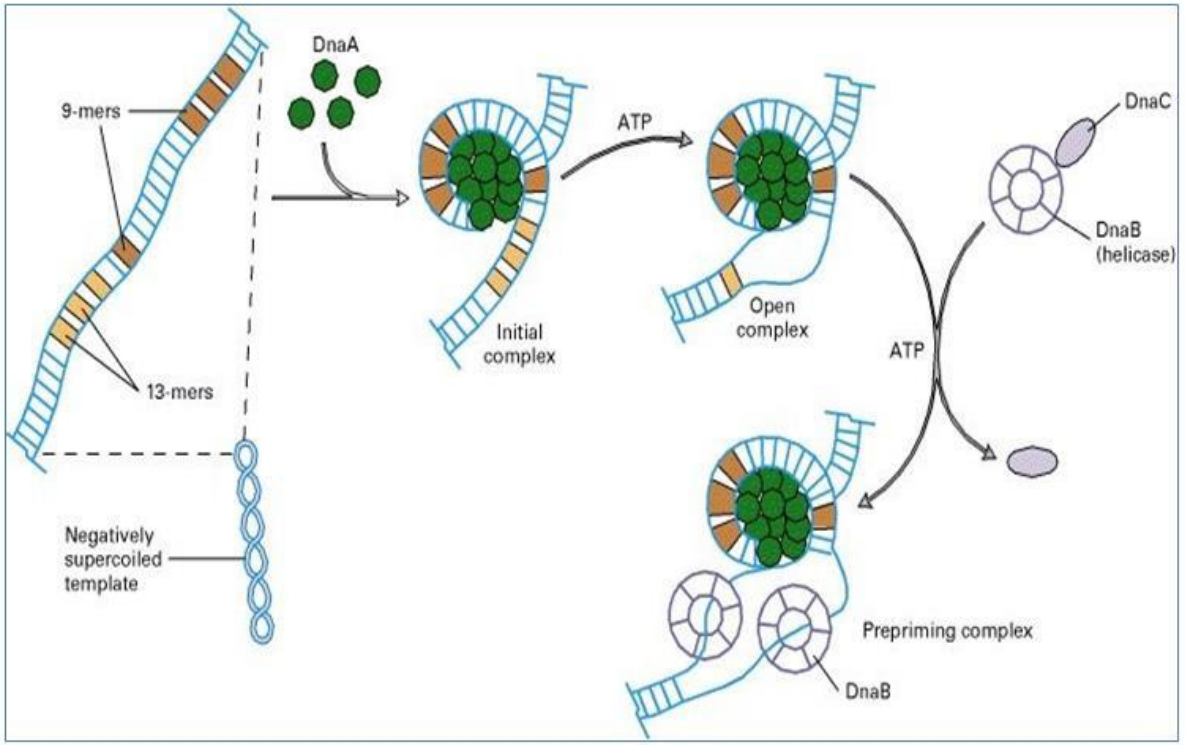
تقترح الدراسات السابقة بدء عملية التضاعف عند الموقع *oriC* (ori تعنى التتابعات النيوكليوتيديه التى تشير إلى بدء التضاعف (حوالى 250 نيوكليوتيده) والذى يعتمد على بروتين يعبر عنه الجين المسمى *DnaA*، هذا البروتين يتحكم فى فك اللولب المزدوج عند موقع الـ oriC.

التجربه:

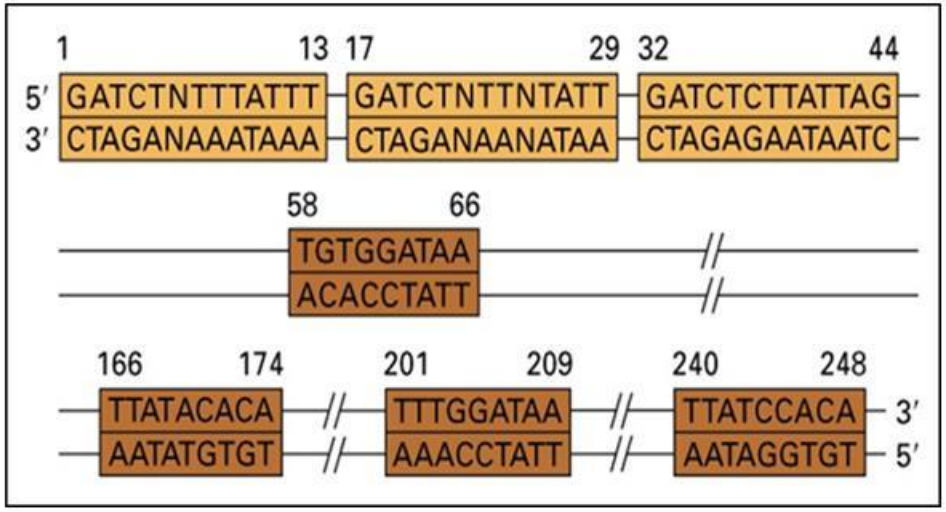
1. تم عزل mutant strains تحمل طفرات temperature-sensitive mutations الموجوده فى جين *DnaA*، تم تنميتها على درجة حراره حوالى 30 درجة مئويه، لوحظ أنها تستطيع أن تكمل دورة تضاعف عاديه.
2. وبتعريض البكتريا السابقة إلى درجات حراره أعلى (39 – 42°C)، لوحظ أن البكتريا لا تستطيع القيام بدروة تضاعف أخرى وتسمى nonpermissive temperatures.

- دراسات اخرى أُستخدم فيها *recombinant E.coli*، حيث إتضح فيها أن بروتين الـ DnaA عامل بدء prime candidate التفاعل مع الموقع oriC

- دراسات أخرى *in vitro* أتضح فيها أن البروتين النقى لجين DnaA يرتيط بـ 9-mers فى الـ*oriC*،
- ويتكون معقد أولى initial complex يحتوى على من 10 إلى 20 من protein subunits
- الـ DnaA يرتبط بموقع تضاعف الـ DNA المزدوج فى الـ*E.coli* فى relaxed circular form،
- وهو يستطيع بدء التضاعف فقط لو جزئ الـ DNA سلبى الحلزنه negative supercoils
- إنزيمات topoisomerases هى االتى تتحكم فى درجة حلزنة الـ DNA، وسوف نتحدث عنها لاحقا.

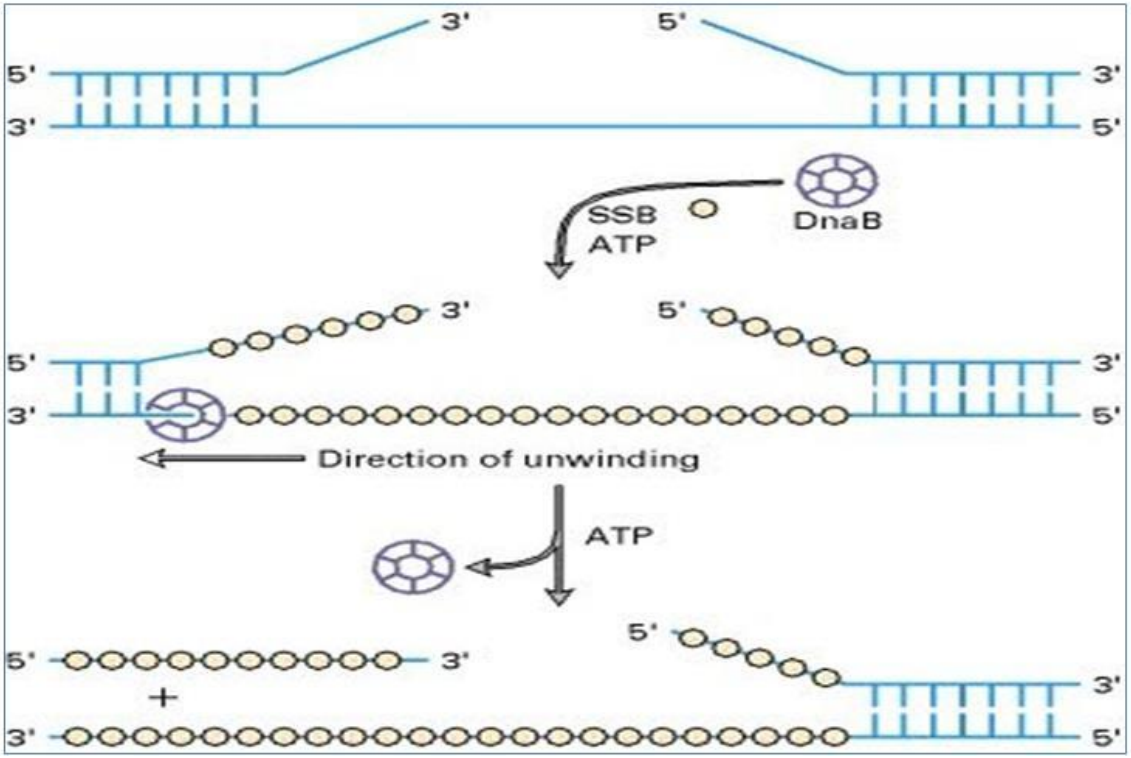


- إرتباط الـ DnaA بتتابعات الـ *oriC* يُسهل الفصل المبدئى لخيطى الـ DNA فى البكتريا، ويكون ذلك بصهر الروابط الهيدروجينيه التى تربط القواعد النيتروجينيه عند الموقع *oriC* 13-mers
- وهذه العمليه تحتاج إلى طاقة تُستمد من الأدينوزين ثلاثى الفوسفات ATP ويسمى المعقد المتكون بالمعقد المفتوح open complex.
- هذا ويتم التعرف على إتمام عملية فصل الخيطين عن طريق إستخدام endonucleases enzymes المتخصصه فى القطع داخل الخيوط المفرده من الـ DNA،
- سوف يقطع الـ DNA فى مكان المنشأ origin region مما يؤكد فصل الخيطين.



دور بروتين DnaB فى التضاعف:

- فصل الـ DNA يتم بواسطة بروتين DnaB، ومن الضرورى توافر إنزيم helicase لعمل تضاعف لل DNA.
- جزئ واحد من DnaB ومجموعة أخرى من hexamers of identical subunits، ترتكز clamps حول كل خيط مفرد لتطون معقد *open complex* بين كلا من **DnaB** و **oriC**.
- هذا المعقد يرافق بروتين DnaB ليصل إلى بروتين DnaA ليتكون المعقد الأولى prepriming complex.
- إنزيمات helicases تحتوى على مجموعه من الإنزيمات التى تتحرك على طول الخيط المزدوج من الـ DNA لفصل خيطى الـ DNA.



- فى بكتريا القولون، يتم تثبيط فصل خيطى الـ DNA حتى يتم إعادة إرتباط reannealing البروتين الذى يرتبط بالخيوط المفرده (SSBP).
- عندما يرتبط الـ DnaB بالخيط المفرد، فأن إنزيمات الهليكيز تتحرك على طول الخيط المفرد لصهر الروابط الهيدروجينيه.
- الـ DnaB يتحرك على طول الخيط المفرد من الـ DNA حيث يرتبط فى الإتجاه الحر 3'،
- **و يمكن القول أن الـ DNA ينفك فى الإتجاه من 3'→5'.**
- الـ DnaB مثل بروتينات أخرى تتفاعل على الـ DNA ، تكون processive (قدرة الإنزيمات على الهدم أو البناء) لأنها تتشكل وترتكز حول الخيط المفرد للـ DNA.
- **يجب أن نلاحظ أن الـ DnaB لا يتوقف 'fall off' حتى يصل إلى نهاية الخيط أو لا ينتقل unloaded من خيط إلى أخر.**
- توجد إنزيمات helicase أخرى تعمل على فك خيوط الـ DNA المزدوجه عكس الإتجاه opposite direction، تتحرك على طول الخيط حيث هذه الإنزيمات ترتبط نحو النهايه الحره 5'.

إنزيم البريميز فى بكتريا القولون:

- إنزيم *E.coli* primase يُحفز تكوين RNA primer اللازم لتخليق الخيوط الجديده من الـ DNA.
- البادئات تستخدم أثناء تخليق الـ DNA فى الكائنات البدائيه و الراقيه على حد السواء،
- إنزيم primase عادة ينجذب إلى الخيط المفرد من الـ DNA بمساعدة بروتين DnaB hexamers المرتبط بهذا الموقع أساسا، ويتكون حينئذ معقد يسمى primosome الذى يتكون من إنزيم الـ primase والـ helicases بالإتحاد مع بعض البروتينات الأخرى المساعده.
- فى بداية عملية التضاعف، يتكون primosome بداية من إرتباط إنزيمات الـ primases مع بروتين الـ DnaB المكون لمعقد prepriming complex.
- يتم تخليق بادئ قصير (**ينفصل من القالب**) من الـ RNAs مكمل لكلا الخيطين من الـ DNA.
- **من الملاحظ أن سلسله واحده من خيطى الـ DNA المخلقه تنمو بتقطع ويتطلب ذلك وجود أكثر من بادئ، حيث لابد من وجود بادىء عند كل قطعه تخلق من الـDNA.**

- عند كل شوكة تضاعف، خيط واحد يسمى leading strand، الذى يُخلق بإستمراريه دون تقطع مستخدما one primer وتنمو الشوكة فى 3' → 5'، وهو فى نفس إتجاه حركة شوكة التضاعف.
- تخليق الخيط الأخر lagging strand يكون أكثر تعقيدا، لأن إنزيمات بلمرة الـ DNA تستطيع إضافة نيكليوتيدات فى الإتجاه 3' للبادئ أو إتجاه نمو السلسله، و حركة شوكة التضاعف تزيل الخيط القالب لتخليق الخيط المتلكأ فى الإتجاه 3' → 5'،
- **لو نظرنا إلى إتجاه تضاعف الخيط المتلكأ يفترض أن يكون من النهايه 3' نحو النهايه 5' وذلك تكملة لقطبية القالب الذى يبنى عليه، لكن لا يحدث ذلك وتكون إتجاه الشوكة ضد إتجاه إضافة النيكليوتيدات بواسطة إنزيمات البلمره** polymerases.
- تخليق الخيط المتلكأ يستمر، حيث أن المواقع الغير مغطاه على الخيط المفرد القالب يتم تضاعفها ببادئات قصيره (**15> نيكليوتيده**) ، هنا يتم إضافة النيوكليوتيدات الجديده على نهاية 3' فى كل بادئ.
- **فى *E.coli* هذا التفاعل يُحفز بواسطة DNA polymerase III،**
- **تتكون قطع قصيره من RNA مرتبط تساهميا بـقطع DNA والتى تسمى Okazaki fragments،**

- فى البكتريا والبكتريوفاجات، تتكون شظايا اوكازاكى بطول حوالى من 1000 إلى 2000 و تأخذ دورة حوالى 2 seconds لكى تكتمل الشظيه.
- فى الخلايا الراقيه، شظايا أوكازاكى تكون اقصر بكثير من مثيلاتها فى البكتريا 100 إلى 200 نيكليوتيده **وذلك للعدد الكبير من مواقع التضاعف الموجوده على طول الكروموسوم فى الراقيات.**
- كل قطعه جديده مخُلقه من الخيط المتلكأ تجذب النهايه '5 لشظية اوكازاكى الملاصقه، ويبداء حينئذ عمل إنزيم DNA polymerase I *E.coli* ، على العكس من Pol III فان Pol I يتميز بنشاط تحليلى طرفى exonuclease activity فى الإتجاه 3′ → 5′، حيث أنه يُزيل البادئات primers RNA من القطع المتلاصقه،
- بينما نشاط البلمره يُحث على ملئ الفراغات gaps الموجوده بين قطع اوكازاكى بإضافة نيكليوتيدات جديده من deoxyribonucleotides. ف
- ى النهايه، إنزيم أخر هام جدا وهو إنزيم اللحم DNA ligase الذى يربط بين adjacent completed fragments.

أنواع إنزيمات البلمره polymerases in prokaryotes

وظائف ومميزات إنزيمات البلمره:

- الأنزيم الذى له نشاط هدم خارجى فى الإتجاه **3' to 5'** قادر على إزالة النيكليوتيده التى بها الخطاء من الطرف 3 فى السلسله الجديده المتكونه أثناء تضاعف الـ DNA.
- لها القدره على مراجعة proofreading صحة النيوكليوتيدات المتكونه.
- **بدون القدره على المراجعة فأن معدل الطفور سوف يصل إلى 1×10^{-6}.**
- الانزيم الذى له قدره على المراجعة سوف يُخفض من معدل الطفور حوالى 1000 مره نسبيا
- النشاط الانزيمى فى الهدم الخارجى فى الإتجاه من **5' to 3'** يقوم بمضاعفة وإصلاح الأخطاء فى الـDNA.

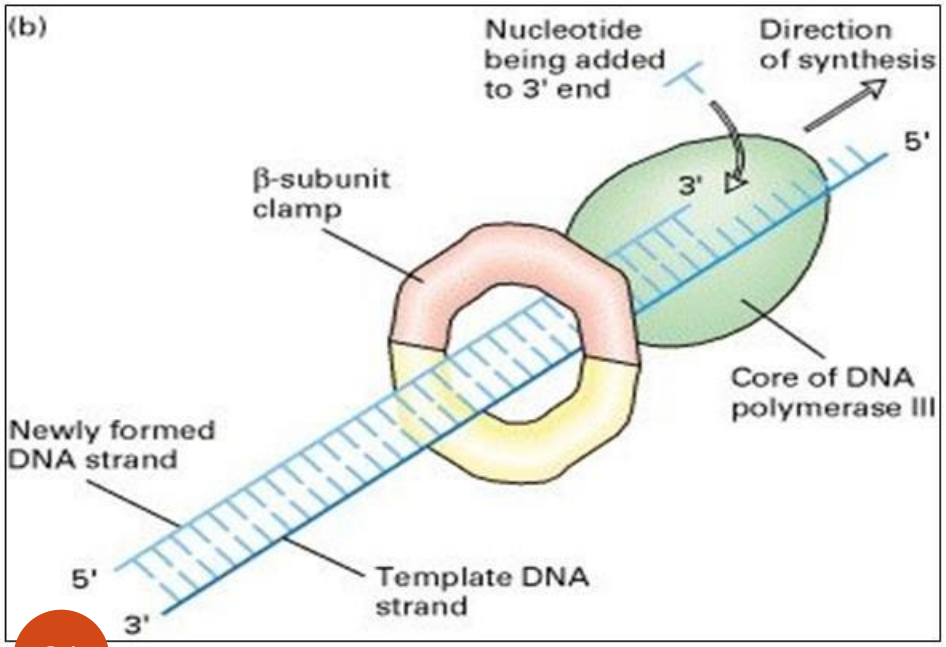
Polymerase	Polymerization (5'→3')	Exonuclease (3'→5')	exonuclease (5'→3')	Copies
I	Yes	Yes	Yes	400
II	Yes	Yes	No	?
III	Yes	Yes	No	10-20

إنزيمات البلمره فى الراقيات

- تتنوع إنزيمات البلمرة Polymerases بإختلاف species ، كما أن بعضها يعمل فى النواه (ntDNA) والبعض الأخر فى الميتكوندريا (mtDNA).
- إنزيم DNA pol III holoenzyme يُحفز catalyze إضافة النيكليوتيدات عند كل شوكة تضاعف:
  - وزن جزيئى كبير جدا أكبر من 600 كيلو دالتون (>600 KDa) ، بروتين معقد يحتوى على 10 سلاسل مختلفه من polypeptides، يسمى core polymerase يحتوى على 3 subunits :
    - alpha subunit (α) تحتوى ى active site لإضافة النيكليوتيدات،
    - إبسلون epsilon (ε) لها نشاط تحليلى فى الإتجاه 5′ → 3′ يسمى بال proofreading.
    - سيتا theta Θ يُعتقد أنها لها دورفى تحديد وقت التضاعف.

Polymerase	Nuclear/ mitochondrial	Dna replication	Proofreading	DNA Repair
Alpha (α)	Nuclear	Yes	No	No
Beta (β)	Nuclear	No	No	Yes
Gamma (γ)	mitochondrial	Yes	Yes	No
Delta (δ)	Nuclear	Yes	Yes	No
Epsilon (ε)	Nuclear	No	Yes	Yes?

- **الدور الرئيسى لباقى تحت الوحدات** هو تحويل Core pol من نشاطه التنظيمى أو التوزيعى،
- حيث أنه تنسحب Falls off من الخيط القالب بعد تكوين أجزاء stretches صغيره من الـ DNA بطول من 10 إلى 50 نيكليوتيده، مقارنة processive enzymes التى تستطيع تكوين قطع DNA بطول 5×10^5 بدون الإنفصال من القالب.
- مفتاح كفاءة هذه العملية هو طبيعة إنزيم DNA pol III وقدرة تحت الوحده β لتكوين donut-shaped dimer حول الحلزون المزدوج و حينئذ ترتبط مع وتحفز core polymerase عند 3' terminus فى السلسله الجديده.
- بعد تمام هذا الإرتباط مع الـ DNA، فان β-subunit dimer تعمل كمثبت clamp حيث تستطيع أن تنزلق slide بحريه على طول الـ DNA،
- **هذه التحت وحده ترتبط بلب الإنزيم لتتحرك بسهوله ويُسر على خيط الـ** DNA.



- تظل المواقع النشطه للب البولميريز بالقرب من شوكة التضاعف وهنا قدرة الإنزيم تصل إلى أقصاها.
- باقى الست وحدات، خمسه منهم {gama (γ), delta (δ), (δ′), chi (χ), and psi (ψ)} تُكون معقد جاما γ complex، الذى يعمل كوسيط وظيفته تتمثل فى loading ال β-subunit لتثبت نفسها على خيطى الـ DNA و unloading لـ β-subunit بعد الإنتهاء من تخليق الـ DNA.

- مع ملاحظة أن تحميل وإزالة الـ β-subunit يحتاج إلى فتح الحلقه clamp ring،
- **وهذا لم يتم الوصول إليه حتى الوقت الحاضر**. تحت الوحده الأخيره τ tau تعمل على جمع أثنين من لب البوليميريز core polymerase و تساعد فى تنسيق coordinate تخليق خيطى الـ DNA عند كل شوكة تتضاعف.