

Replikasi DNA dan Ekspresi Gen

Biologi Molekuler • SKDI BIOMEDIK

Course biomedik tentang mekanisme molekuler replikasi DNA, transkripsi, dan translasi sebagai dasar ekspresi gen. Cocok untuk mahasiswa kedokteran tahap awal yang ingin memahami sentral dogma secara integratif.

Modul 1: Dasar Replikasi DNA

1.1 Struktur DNA sebagai Cetakan Replikasi

Struktur DNA sebagai Cetakan Replikasi

DNA (deoxyribonucleic acid) merupakan polimer ganda yang tersusun atas empat jenis deoksiribonukleotida: deoksiadenosin monofosfat (dAMP), deoksiguanozin monofosfat (dGMP), deoksisitidin monofosfat (dCMP), dan deoksitimidin monofosfat (dTMP). Setiap nukleotida dihubungkan oleh ikatan fosfodiester 3'–5' pada backbone gula-fosfat, sementara kedua untai berpasangan melalui ikatan hidrogen: Adenin (A) berpasangan dengan Timin (T) membentuk dua ikatan hidrogen, dan Guanin (G) berpasangan dengan Sitosin (C) membentuk tiga ikatan hidrogen. Konfigurasi ini menghasilkan double helix dengan arah antiparalel, yaitu untai 5'!3' dan untai komplemennya 3'!5'.

Struktur double helix ini bersifat semi-konservatif dalam proses replikasi, seperti dibuktikan oleh eksperimen Meselson-Stahl. Setiap untai lama berfungsi sebagai cetakan (template) untuk sintesis untai baru, sehingga molekul anak terdiri atas satu untai parental dan satu untai baru. Sifat antiparalel dan komplementer memastikan fidelitas tinggi dalam pewarisan informasi genetik.

Komponen-komponen penting dalam struktur DNA:

- Gula deoksiribosa sebagai backbone, berbeda dengan RNA yang menggunakan ribosa.
- Basa nitrogen purin (A, G) dan pirimidin (T, C).
- Fosfat yang menghubungkan nukleotida secara berurutan.

Korelasi Klinis Singkat

Mutasi pada gen yang menyandikan enzim perbaikan DNA dapat menyebabkan penyakit seperti xeroderma pigmentosum, di mana pasien sangat rentan terhadap kanker kulit akibat kegagalan memperbaiki kerusakan DNA akibat sinar ultraviolet.

Poin Kunci:

- DNA bersifat antiparalel dan komplementer
- Replikasi bersifat semi-konservatif
- A berpasangan dengan T; G berpasangan dengan C

> Disclaimer: Materi ini untuk tujuan pendidikan. Selalu rujuk buku teks biomedik terkini dan konsultasikan dengan dosen/supervisor.

1.2 Mekanisme Replikasi DNA

Mekanisme Replikasi DNA

Replikasi DNA adalah proses penggandaan molekul DNA secara akurat sebelum

pembelahan sel. Proses ini terjadi pada fase S siklus sel dan memerlukan koordinasi banyak enzim. Titik awal replikasi pada eukariot disebut origin of replication (ori), tempat terbentuknya replication bubble dengan dua replication fork yang bergerak ke arah berlawanan.

Tahap-tahap utama replikasi:

- Inisiasi: Origin Recognition Complex (ORC) merekrut Cdc6, Cdt1, dan MCM helicase untuk membentuk prereplication complex. Aktivasi MCM oleh Dbf4-dependent kinase (DDK) dan S-Cdk membuka double helix.
- Elongasi: Helikase membuka untai DNA; single-strand binding protein (SSB/RPA) menstabilkan untai tunggal. Primase mensintesis primer RNA pendek. DNA polimerase ; memulai sintesis lalu digantikan DNA polimerase ; β $\pm$ γ δ ϵ ζ η θ ι κ λ μ (untai leading). DNA polimerase hanya dapat menambahkan nukleotida pada ujung 3'-OH sehingga sintesis berjalan 5'!3'.
- Terminasi: Pada eukariot, replikasi berakhir saat replication fork bertemu dan protein Crc1/Topoisomerase II memisahkan sister chromatid.

Karena antiparalelisme, satu untai disintesis kontinu (leading strand) dan untai lain disintesis secara diskontinu dalam fragmen Okazaki (lagging strand). Setiap fragmen Okazaki memerlukan primer RNA baru yang kemudian digantikan oleh DNA dan fragmen disambung oleh DNA ligase. Topoisomerase (I dan II) berfungsi menghilangkan tegangan supercoil di depan helicase.

Korelasi Klinis Singkat

Obat kemoterapi seperti cisplatin dan doxorubicin bekerja dengan mengganggu replikasi DNA, sedangkan inhibitor topoisomerase (etoposid) menyebabkan kerusakan untai ganda yang memicu kematian sel kanker.

Poin Kunci:

- Replikasi bersifat semi-konservatif, semi-diskontinu, dan 5'!3'
- Leading strand kontinu; lagging strand membentuk fragmen Okazaki
- Topoisomerase, helicase, primase, polimerase, dan ligase bekerja terkoordinasi

> Disclaimer: Materi ini untuk tujuan pendidikan. Selalu rujuk buku teks biomedik terkini dan konsultasikan dengan dosen/supervisor.

Modul 2: Transkripsi dan Translasi

2.1 Transkripsi: dari DNA ke mRNA

Transkripsi: dari DNA ke mRNA

Transkripsi adalah sintesis RNA dari cetakan DNA yang dikatalisis oleh enzim RNA polimerase. Pada eukariot terdapat tiga jenis RNA polimerase: RNA Pol I mensintesis rRNA (kecuali 5S), RNA Pol II mensintesis mRNA dan sebagian snRNA, sedangkan RNA Pol III mensintesis tRNA dan rRNA 5S. Berbeda dengan DNA polimerase, RNA polimerase tidak memerlukan primer dan dapat memulai sintesis de novo.

Tahap transkripsi meliputi:

- Inisiasi: Faktor transkripsi umum (TFIID, TFIIA, TFIIB, TFIIF, TFIIIE, TFIIH) berikatan pada promotor (TATA box pada posisi -25 dan Inr pada +1) membentuk preinitiation complex. RNA Pol II dengan C-terminal domain (CTD) merekrut kompleks tersebut.
- Elongasi: Setelah promotor cleared, RNA polimerase bergerak 5'!3' membuka transcription bubble sekitar 12-17 basa. Faktor elongasi (TFIIS, Spt5) mengatur laju transkripsi.
- Terminasi: Pada gen protein, polyadenylation signal (AAUAAA) dikenali yang memicu cleavage dan penambahan poli-A. Terminasi pada rRNA menggunakan mekanisme yang berbeda.

Pemrosesan pasca-transkripsi (post-transcriptional modification) meliputi:

- Capping 5': penambahan 7-methylguanosine pada ujung 5' untuk melindungi RNA dari eksonuklease.
- Splicing: penghilangan intron oleh spliceosome (snRNP U1, U2, U4, U5, U6) melalui reaksi transesterifikasi dua tahap, menghasilkan lariat.
- Poly-A tail 3': penambahan 100-250 adenin yang meningkatkan stabilitas dan ekspor mRNA.

Korelasi Klinis Singkat

Mutasi pada daerah splice site menyebabkan thalassemia ;" F â &V&W apa distrofi otot karena splicing abnormal menghasilkan mRNA yang tidak fungsional atau terdegradasi oleh nonsense-mediated decay.

Poin Kunci:

- RNA Pol II mentranskripsi mRNA; memerlukan promotor dan faktor transkripsi
- Capping, splicing, dan poli-A melindungi dan memproses pre-mRNA
- Splicing dilakukan spliceosome melalui mekanisme dua transesterifikasi

> Disclaimer: Materi ini untuk tujuan pendidikan. Selalu rujuk buku teks biomedik terkini dan konsultasikan dengan dosen/supervisor.

2.2 Translasi: dari mRNA ke Protein

Translasi: dari mRNA ke Protein

Translasi adalah sintesis polipeptida berdasarkan urutan kodon pada mRNA. Proses ini terjadi di ribosom sitoplasma dan memerlukan tRNA, berbagai faktor protein, serta GTP. Kode genetik bersifat triplet, non-overlapping, dan degenerate (61 kodon menyandi asam amino, 3 kodon stop), dengan AUG sebagai start kodon untuk metionin.

Komponen utama:

- Ribosom: terdiri atas subunit 40S (rRNA 18S dan protein) dan 60S (rRNA 28S, 5.8S, 5S) pada eukariot. Situs A (aminoacyl), P (peptidyl), dan E (exit) menjadi tempat pengikatan tRNA.
- tRNA: molekul adaptor dengan antikodon yang berpasangan dengan kodon mRNA, serta ujung 3'-CCA yang mengikat asam amino spesifik melalui aminoacyl-tRNA synthetase.

Tahap translasi:

- Inisiasi: eIF4E mengikat cap 5', eIF4G menjadi scaffold, eIF2-GTP-Met-tRNAⁱ membentuk ternary complex. Subunit 40S bersama ternary complex membentuk 43S preinitiation complex, lalu scanning hingga menemukan kodon AUG dengan bantuan eIF1. Subunit 60S bergabung membentuk kompleks 80S.
- Elongasi: eEF1A-GTP membawa aminoacyl-tRNA ke situs A. Peptidyl transferase (aktivitas katalitik rRNA 28S) membentuk ikatan peptida. Translokasi dilakukan eEF2-GTP yang menggeser ribosom tiga nukleotida.
- Terminasi: Stop kodon (UAA, UAG, UGA) dikenali release factor eRF1 yang mengaktifkan hidrolisis peptida. Kompleks di-recycle oleh eRF3-GTP.

Setelah translasi, protein mengalami folding dibantu chaperone (Hsp70, GroEL) dan dapat mengalami modifikasi pasca-translasi seperti fosforilasi, glikosilasi, atau ubiquitinasi.

Korelasi Klinis Singkat

Antibiotik seperti tetrasiklin, aminoglikosida, dan makrolida menghambat translasi pada bakteri dengan subunit ribosom 30S/50S, namun relatif tidak memengaruhi ribosom eukariot 80S karena perbedaan struktural.

Poin Kunci:

- Kode genetik bersifat triplet, universal, dan degenerate
- Ribosom memiliki situs A, P, dan E; aktivitas peptidyltransferase ada pada rRNA
- eIF berperan pada inisiasi; eEF1A membawa tRNA; eEF2 melakukan translokasi

> Disclaimer: Materi ini untuk tujuan pendidikan. Selalu rujuk buku teks biomedik terkini dan konsultasikan dengan dosen/supervisor.

2.3 Regulasi Ekspresi Gen

Regulasi Ekspresi Gen

Regulasi ekspresi gen menentukan kapan, di mana, dan seberapa banyak produk gen dihasilkan. Pada eukariot, regulasi terjadi pada berbagai tingkat mulai dari kromatin hingga pasca-translasi, memungkinkan respons spesifik terhadap sinyal perkembangan, lingkungan, dan stres.

Tingkat regulasi meliputi:

- Epigenetik: Metilasi sitosin pada CpG islands menyebabkan silencing gen. Modifikasi histone (asetilasi, metilasi, fosforilasi, ubiquitinasi) membentuk histone code yang dibaca oleh protein reader. Histone acetyltransferase (HAT) mengaktifkan transkripsi, sedangkan histone deacetylase (HDAC) menekan transkripsi. Remodeling kromatin oleh kompleks SWI/SNF mengubah aksesibilitas DNA.
- Transkripsi: Enhancer dan silencer yang dapat terletak jauh dari gen berinteraksi melalui looping yang dimediasi oleh mediator dan cohesin. Transcription factor (TF) spesifik jaringan berikatan pada enhancer untuk mengaktifkan atau menekan transkripsi.
- Pasca-transkripsi: Alternative splicing menghasilkan isoform protein berbeda dari satu gen (contoh: tropomiosin pada otot skelet vs otot polos). RNA editing (A-to-I editing oleh ADAR) mengubah urutan protein. miRNA dan siRNA menyebabkan silencing pasca-transkripsi melalui kompleks RISC.
- Translasi: Fosforilasi eIF2; F 7G&W2 ÖVævt Ö& B –æ—6– 6' G anslasi global namun mengaktifkan translasi mRNA spesifik yang mengandung uORF (contoh: ATF4 pada respons stres ER).
- Pasca-translasi: Fosforilasi oleh kinase, glikosilasi, ubiquitinasi untuk degradasi proteasomal, dan sumoilasi memengaruhi aktivitas, lokalisasi, dan stabilitas protein.

Regulasi ini membentuk jaringan kompleks yang memungkinkan spesialisasi sel. Sel hepar mengekspresikan albumin tetapi bukan insulin; sel ;" æ·&V 2 ÖVÆ ·V¶ â 6V& Æ–¶àya meskipun genomnya identik.

Korelasi Klinis Singkat

HDAC inhibitor seperti vorinostat digunakan pada kutanus T-cell lymphoma, sedangkan inhibitor DNA methyltransferase (azacitidine) digunakan pada sindrom mielodisplastik, menunjukkan bahwa regulasi epigenetik adalah target terapi yang penting.

Poin Kunci:

- Regulasi terjadi pada tingkat epigenetik, transkripsi, pasca-transkripsi, translasi, dan pasca-translasi
- Enhancer dan silencer bekerja melalui looping kromatin
- miRNA dan modifikasi histone merupakan mekanisme regulasi utama

> Disclaimer: Materi ini untuk tujuan pendidikan. Selalu rujuk buku teks biomedik terkini dan

konsultasikan dengan dosen/supervisor.

Daftar Pustaka / Referensi

1. Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, David Morgan, Martin Raff, Keith Roberts. Molecular Biology of the Cell. Garland Science (2017). doi:10.1201/9781315735368
2. Lodish H, Berk A, Kaiser CA, Krieger M, Bretscher A, Ploegh H, Amon A, Martin KC. Molecular Cell Biology. W.H. Freeman (2016).
3. Nelson DL, Cox MM. Lehninger Principles of Biochemistry. W.H. Freeman (2017).
4. Watson JD, Baker TA, Bell SP, Gann A, Levine M, Losick R. Molecular Biology of the Gene. Pearson (2017).
5. Stephen P Bell, Karim Labib. Chromosome Duplication in *Saccharomyces cerevisiae*. Genetics (2016). doi:10.1534/genetics.115.186452
6. Bo Hou, Pen-Jen Lin, Arthur E. Johnson. Membrane Protein TM Segments Are Retained at the Translocon during Integration until the Nascent Chain Cues FRET-Detected Release into Bulk Lipid. Molecular Cell (2012). doi:10.1016/j.molcel.2012.08.023
7. National Human Genome Research Institute. DNA Replication Fact Sheet. NIH (2020). <https://www.genome.gov/genetics-glossary/DNA-Replication>
8. Khan Academy. Central Dogma of Molecular Biology. Khan Academy (2019). <https://www.khanacademy.org/science/biology/gene-expression-central-dogma>

Disclaimer / Pernyataan Penting

Materi dalam dokumen ini disusun untuk tujuan pendidikan kedokteran berdasarkan kurikulum SKDI 2012. Informasi klinis harus selalu diverifikasi dengan sumber terkini (pedoman nasional, jurnal terindeks, konsultasi supervisor klinis). Penulis dan Malayan Saintifika tidak bertanggung jawab atas keputusan klinis yang diambil berdasarkan materi ini semata.