

Pokok Bahasan:

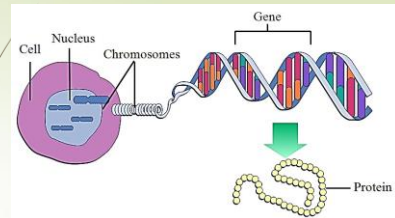
Ekspresi gen

Tujuan Instruksional Khusus:
Setelah mengikuti mata kuliah ini mahasiswa dapat menjelaskan ekspresi gen



Sub Pokok Bahasan :

1. Regulasi Ekspresi
2. Sintesis Protein



3.1. Regulasi ekspresi

Pengaruh suatu gen dapat diamati secara visual misalnya pada anggur dengan warna buah yang hijau, warna ungu muda sampai dengan warna ungu tua. Dari pola tandan buah ada yang jarang, lebat hingga sangat lebat. Semua perbedaan tersebut disebabkan oleh ekspresi gen yang berbeda.

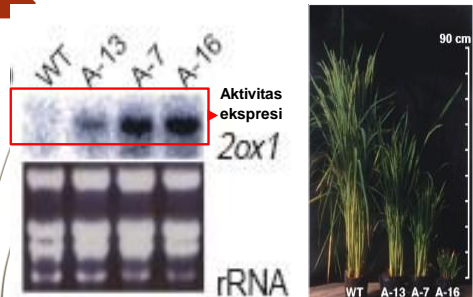


Ungu tua sangat lebat

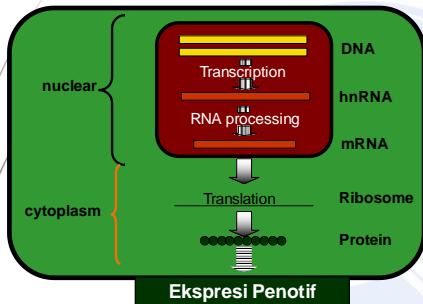
Ungu muda jarang

Hijau lebat

Pengaruh suatu gen juga dapat dibedakan dari tingkat aktivitas ekspresi. Misalnya aktivitas ekspresi gen kerdil *AoX* pada padi, menyebabkan perbedaan tinggi tanaman. Makin tinggi aktivitas ekspresi gen *AoX* menyebabkan tanaman padi makin kerdil.



Proses ekspresi terjadi pada dua lokasi, yaitu pada inti dan sitoplasma



Berdasarkan hasil yang dicapai dari proses ekspresi, dikenal 3 kelas gen, yaitu:

1. **Gen kelas I:** gen-gen kelas ini menghasilkan protein yang nantinya menjadi ribosom sebagai mesin translasi mRNA, sehingga produk ekspresinya disebut rRNA (ribosome RNA).

2. **Gen kelas II:** gen-gen kelas ini menghasilkan protein yang akan berfungsi sebagai enzim yang berperan dalam proses fisiologi tanaman dalam membentuk fenotipe (keragaan) suatu individu tanaman. Produk ekspresinya disebut mRNA (messenger RNA)

3. **Gen kelas III:** gen-gen kelas ini menghasilkan protein yang akan berfungsi sebagai pembawa asam amino dari sitoplasma ke ribosome untuk membentuk rantai asam amino dari mRNA, sehingga produk ekspresinya disebut tRNA (transfer RNA).

Dalam mengendalikan proses fisiologi dan keragaan tanaman, gen kelas II dapat dibedakan menjadi 2 kelompok gen, yaitu :

1. **Constitutive expression**
2. **Specific expression**

1. **Gen yang berekspresi terus menerus (Constitutive expression).** Gen-gen ini diekspresikan terus menerus pada sebagian besar organ, karena dibutuhkan untuk memenuhi kebutuhan dasar, seperti respirasi untuk mendapatkan energi. Gen-gen ini disebut *housekeeping genes*, yang meliputi 10% dari seluruh gen.

2. **Gen yang bereksresi khusus (Specific expression).** Gen-gen ini diekspresikan pada organ tertentu, tahap perkembangan tertentu, atau pada kondisi lingkungan tertentu, seperti pada pembungaan, pematangan buah, merespon stress air, atau ketika mendapat serangan penyakit. Gen-gen ini disebut *inducible genes*, yang meliputi 90% dari seluruh gen.

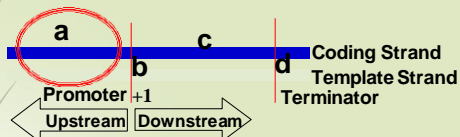
Proses ekspresi suatu gen yang terjadi pada inti sel adalah 2 tahapan, yaitu:

1. **Proses transkripsi (Transcription).** Pada tahap ini dilakukan penggandaan salah satu utas DNA pengkode (coding strand/positive strand), dengan melakukan komplementasi pada utas lainnya sebagai template (template strand/negative strand). Hasil dari proses ini adalah RNA yang disebut heteronuclear RNA (hnRNA)

2. **Pemrosesan RNA (RNA Processing).** Pada tahap ini hnRNA mengalami beberapa tahapan, sehingga terlindung pada kedua ujungnya serta bagian-bagian yang tidak akan diterjemahkan menjadi asam amino (intron), sehingga diperoleh RNA yang siap diterjemahkan menjadi rantai asam amino, **sehingga RNA ini disebut messenger RNA (mRNA).**

Tahapan Transkripsi

- a. Pengenalan template (*Template recognition*)
- b. Inisiasi pembentukan RNA (*Initiation*)
- c. Pemanjangan RNA (*Elongation*)
- d. Terminasi (*Termination*)



- a. **Pengenalan template (*Template recognition*)**

Pada tahapan ini enzim *RNA polymerase* (enzim yang berperan dalam sintesa RNA) mulai berikatan dengan utas ganda DNA, selanjutnya menentukan utas mana yang jadi utas pengkode dan utas mana yang akan dijadikan template, berdasarkan keberadaan promotor, yang menunjukkan utas pengkode.

Terdapat banyak jenis promotor, tetapi yang paling umum adalah TATA box yang berada 10 basa sebelum titik inisiasi (10 pasang basa pada arah downstream)

1. TATA box (TATAAA, 10 pb);
2. CAAT box (GGCCAATCT, 22 pb);
3. GC box (GGGCGG, 20pb);
4. Octamer (ATTTGCAT, 20 pb);
5. kB (GGGACTTTCC, 10 pb);
6. ATF (GTGACGT, 20 pb).

b. Inisiasi pembentukan RNA (*Initiation*)

Pada tahapan ini RNA polymerase mulai membuat basa RNA pertama pada titik awal (start site) sesuai jarak yang ditetapkan dari sekuens promotor, dengan mengkomplementasai basa pada utas template.

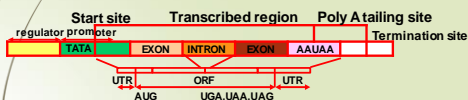


c. Pemanjangan RNA (*Elongation*)

Pada tahap ini RNA polymerase bergerak sepanjang utas ganda DNA, sambil melanjutkan sintesis RNA, sesuai dengan utas template, sehingga mencapai titik terminasi. Daerah tempat DNA dikode menjadi RNA disebut *transcribed region*

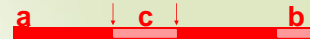
d. Terminasi (*Termination*)

Pengenalan titik akhir transcribed region, dimana setelah itu tidak ada lagi penambahan basa pada utas RNA yang terbentuk.



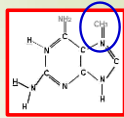
Tahapan Pemrosesan RNA

- a. Penambahan Cap pada ujung 5' (*Capping*)
- b. Penambahan basa Adenine (*Polyadenilation*)
- c. Pemotongan intron (*Splicing*)



a. Penambahan Cap pada ujung 5' (Capping)

Pada tahapan ini dilakukan penambahan basa G yang sudah mengalami metilasi (penambahan CH₃ pada unsur N) pada ujung 5', untuk menghambat perusakan RNA oleh RNase (enzim pengurai RNA)



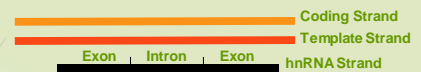
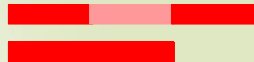
b. Penambahan basa Adenine (Polyadenylation)

Pada tahapan ini dilakukan penambahan banyak basa (10-30) Adenine pada ujung 3', yang dimaksudkan untuk meningkatkan stabilitas RNA.

AAAAAA

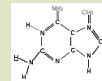
c. Pemotongan intron (Splicing)

Pada tahap ini enzim restriksi memotong bagian intron, selanjutnya bagian exon disatukan dengan enzim ligasi menjadi messenger RNA. Intron yang sudah dipotong diurai lagi menjadi basa, dan digunakan untuk pembentukan RNA berikutnya.



a. Capping

mGppp



b. Polyadenylation

mGppp AAAAAA

c. Splicing

mGppp AAAAAA mRNA Strand

3.2. Sintesis Protein

Sintesis Protein, terdiri dari empat tahap yaitu:

1. Transport mRNA dari inti sel ke sitoplasma
2. Pengikatan mRNA ke ribosome
3. Penterjemahan (*Translation*) mRNA menjadi rantai asam amino pada ribosome dengan bantuan tRNA
4. Pengembangan rantai asam amino menjadi protein aktif

1. Transport mRNA dari inti sel ke sitoplasma

mRNA yang sudah diproses di dalam inti sel dialihkan ke sitoplasma untuk memulai tahapan sintesis protein (*translation*)



2. Pengikatan mRNA ke ribosome mRNA yang sudah berada dalam sitoplasma selanjutnya berikatan dengan ribosome sebagai tahap awal dari proses sintesis protein (translasi)

3. Penterjemahan (*Translation*) mRNA

Satu asam amino dikode oleh 3 basa, sehingga karena terdapat 4 basa akan terbentuk 64 kombinasi basa (4^3). Akan tetapi karena 3 kombinasi digunakan sebagai stop kodon, maka tersisa 61 basa.

Jumlah asam amino yang digunakan dalam penyusunan protein adalah 20, sehingga ada beberapa asam amino di kode oleh lebih dari 1 codon.

No.	Tiga Huruf	Satu Huruf	Codon	No.	Tiga Huruf	Satu Huruf	Codon
1		M	AUG	11	Tyr	Y	UA C/U
2		W	UGG	12	Ile	I	AU A/C/U
3	Asn	N	AA C/U	13	Ala	A	GCI
4		D		14	Gly	G	GCI
5	Cys	C		15	Pro	P	GCI
6	Glu	E		16	Thr	T	ACI
7		Q		17	Val	V	GUI
8		H		18	Arg	R	A/C GI
9	Lys	K		19	Leu	L	C/U UI
10	Phe	F		20	Ser	S	A/U G/C I

mRNA yang berikatan dengan ribosome memulai dengan penempelan tRNA pembawa asam amino methionine (M-tRNA) melakukan komplementasi pada titik awal daerah mRNA yang akan diterjemahkan ke dalam protein (ORF: *Open Reading Frame*), melalui komplementasi dengan tiga basa yang mengkode (*codon*) Methionine yaitu AUG, karena pada M-tRNA terdapat 3 basa komplementnya yaitu UAC. Daerah yang tidak diterjemahkan disebut *UnTranslated Region* (UTR).



Setelah AUG (disebut juga start codon) diterjemahkan menjadi Methionine, selanjutnya dilakukan pemanjangan rantai asam amino, sesuai dengan t-RNA yang komplemen dengan utas m-RNA, sampai akhirnya bertemu dengan kombinasi 3 basa yang menunjukkan titik berhenti proses pemanjangan rantai asam amino. Kombinasi tersebut disebut stop codon (UGA, UAA, UAG).

MWNDCEQHKFYIAGPT**VR**LS

Ujung awal rantai asam amino (M) disebut ujung Nitrogen sedangkan ujung asam amino sebelum terhenti oleh stop codon disebut ujung carboxyl

4. Pengembangan Protein

Rantai asam amino yang terbentuk akan disusun menjadi bangun protein yang siap menjadi enzim tunggal atau harus bergabung dengan rantai lain sebelum menjadi enzim aktif.

Melalui pembentukan enzim akan dilakukan serangkaian proses fisiologis yang akan menentukan penotipe tanaman.