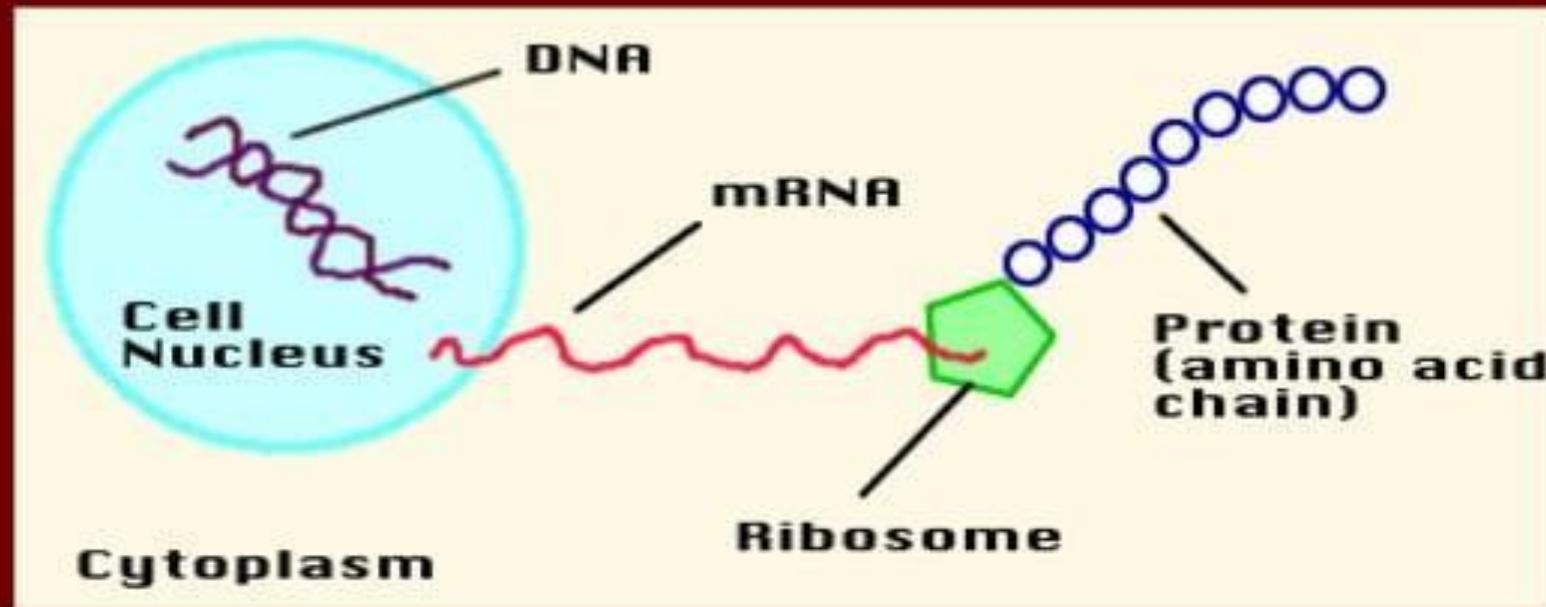


Biologi sel molekuler

P9. Bahan Genetik dan Struktur Genom

Desi Novita Revianawati

Dogma Sentral Biologi



DNA

DNA (Deoxyribo Nucleic Acid = Asam Deoksiribo Nukleat) merupakan sejenis asam nukleat yang tergolong biomolekul utama penyusun berat kering setiap organisme. Di dalam sel, DNA umumnya terletak di dalam inti sel.

DNA merupakan polimer yang terdiri dari tiga komponen utama

- ❖ gugus fosfat
- ❖ gula deoksiribosa
- ❖ basa nitrogen, yang terdiri dari:
 - ✓ Adenina (A)
 - ✓ Guanina (G)
 - ✓ Sitosina (C)
 - ✓ Timina (T)

Fungsi :

- pembawa sifat menurun
- perancang sintesis protein

Bentuk:

Pita ganda berpilin (double heliks) dan panjang

Susunan kimia :

Tersusun atas rangkaian nukleotida (polinukleotida).

Satu nukleotida tersusun atas:

Gula, pospat dan basa nitrogen

Gula: tersusun atas gula pentosa (gula berkarbon 5) yaitu deoksiribonukleat.

Pospat: molekul pospatnya berbentuk PO_4 .

Basa nitrogen:

Kelompok pirimidin (Sitosin /S dan Timin/T)

Kelompok purin (Adenin / A dan Guanin / G)

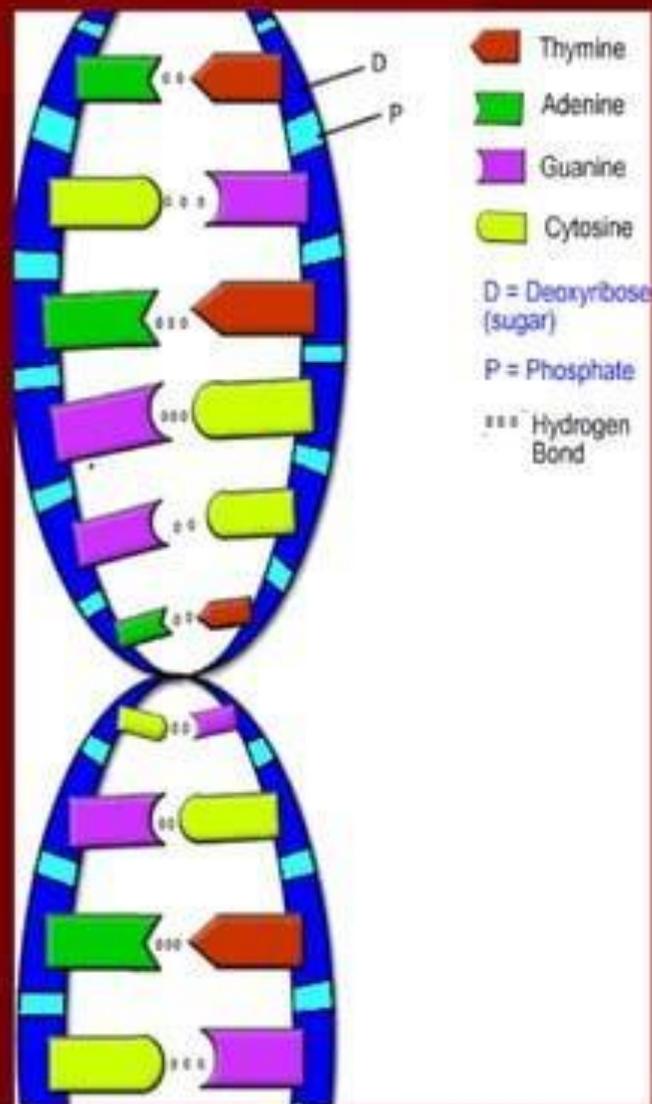


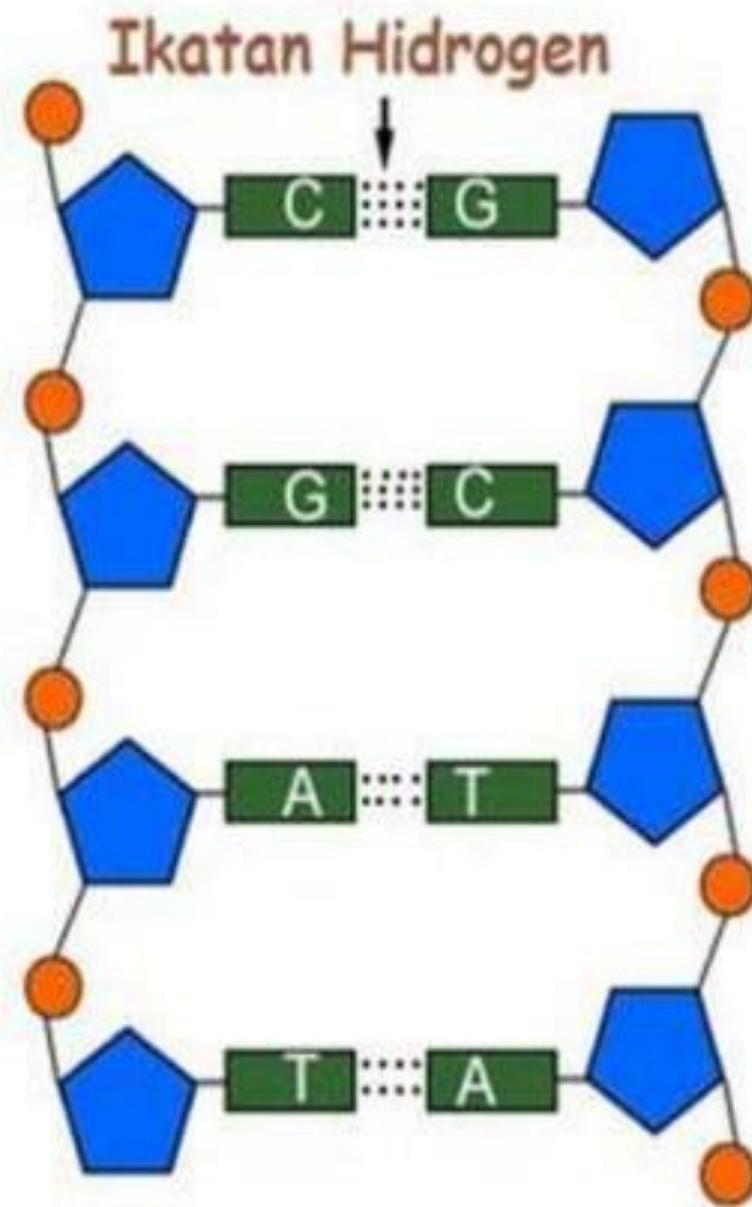
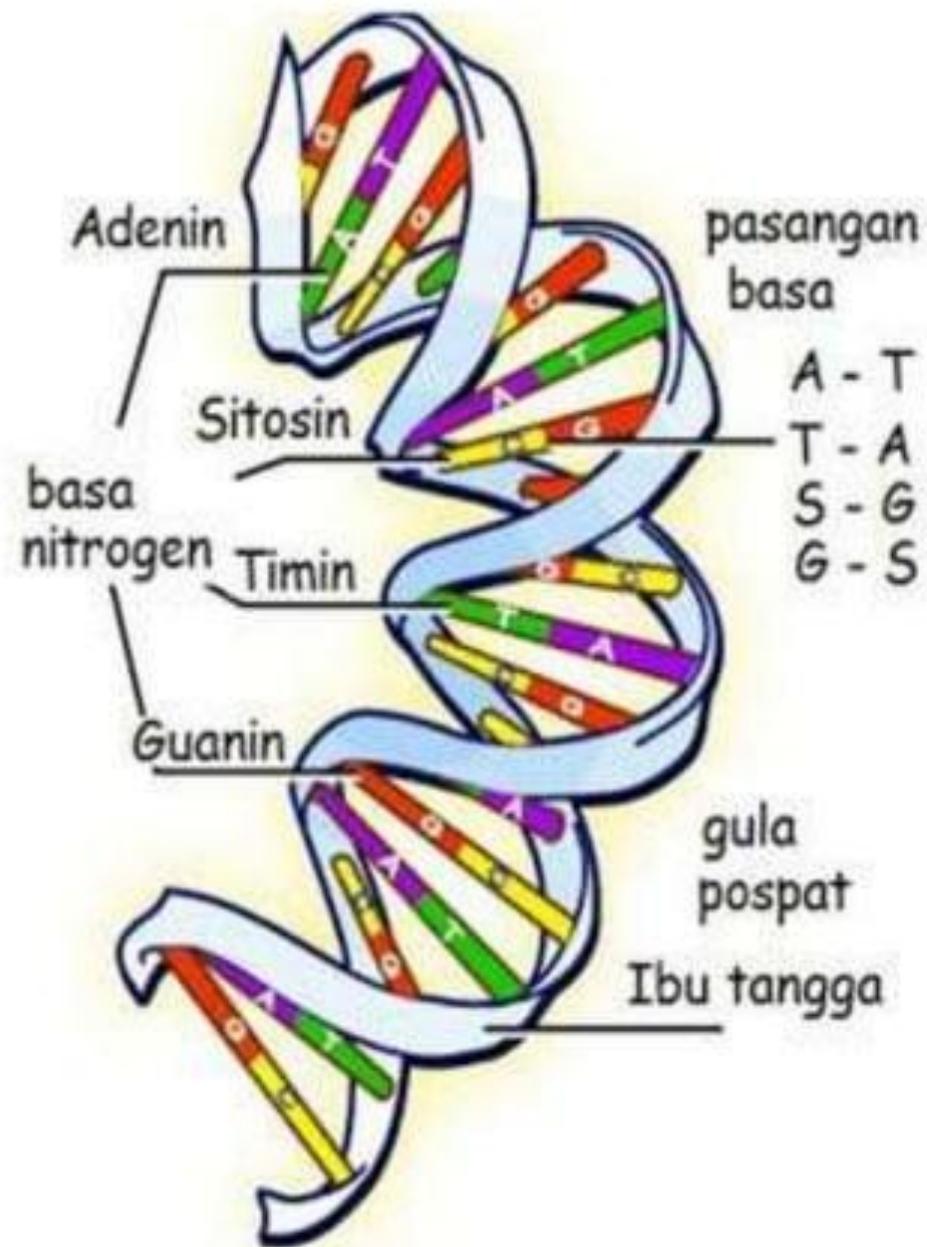
Struktur Asam Nukleat

- **Definisi:** polimer nukleotida yang berperan di dalam penyimpanan serta pemindahan informasi genetik.
- **Komponen penyusun:** basa nitrogen, pentosa, dan gugus fosfat.
- **Klasifikasi:** DNA dan RNA.

Struktur DNA

- **Basa nitrogen**
 - a. Cincin Purin: Adenin (A) dan Guanin (G)
 - b. Cincin Pirimidin: Thymine (T) dan Cytosin (C)
- **Pentosa** (Molekul gula dengan 5 atom C): Deoksiribosa (atom C no 2 berikatan dengan atom H)
- **Gugus fosfat**





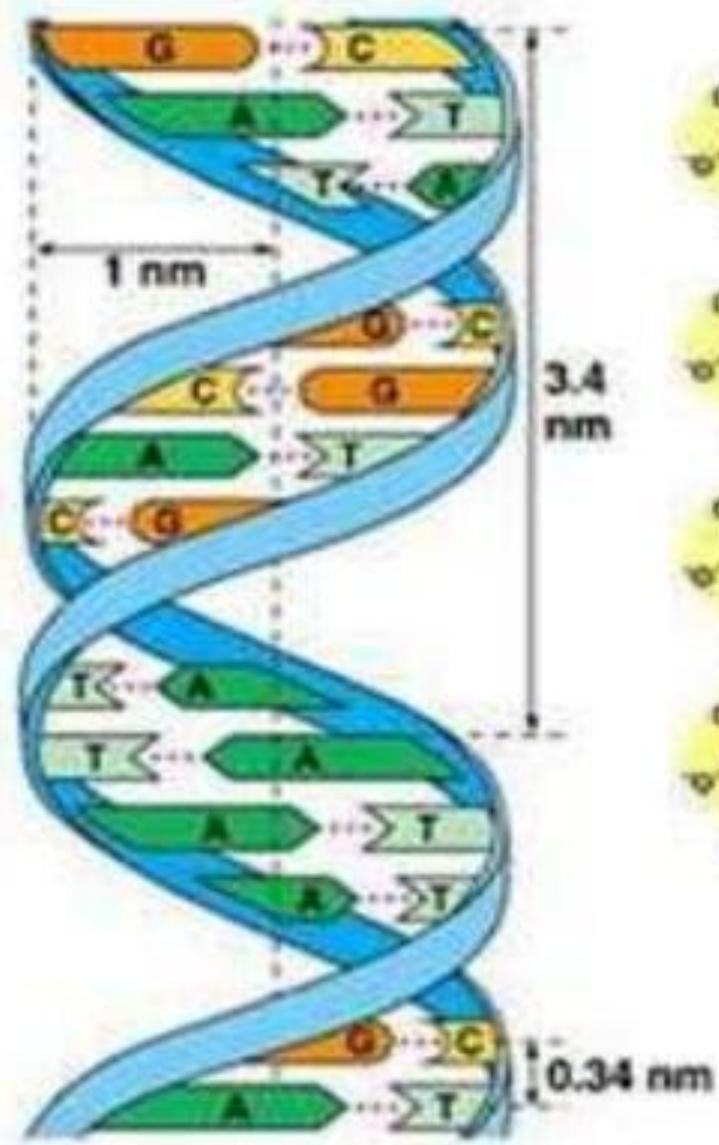
Struktur double heliks menurut watson dan Crick sbb:

Satu spiral penuh mengandung 10 basa nitrogen

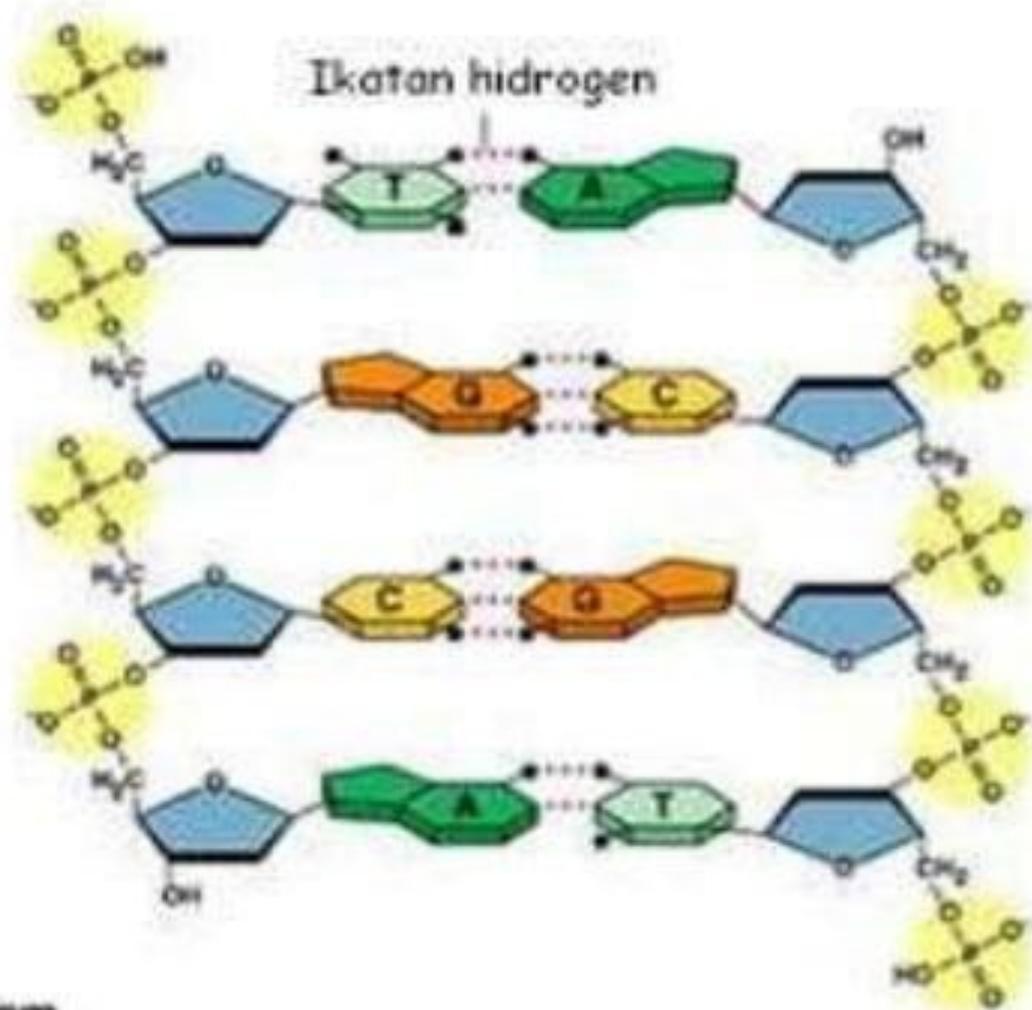
Jarak antara basa satu dengan basa yang lain
adalah 3,4 Angstrom (1 angstrom = 0,0001
mikron)

Jarak satu spiral penuh adalah 34 angstrom

Dalam nukleotida, pospat terletak diantara dua
molekul glukosa dan terikat pada 3' C dari suatu
molekul gula dan 5' C dari molekul gula
berikutnya.



(a)



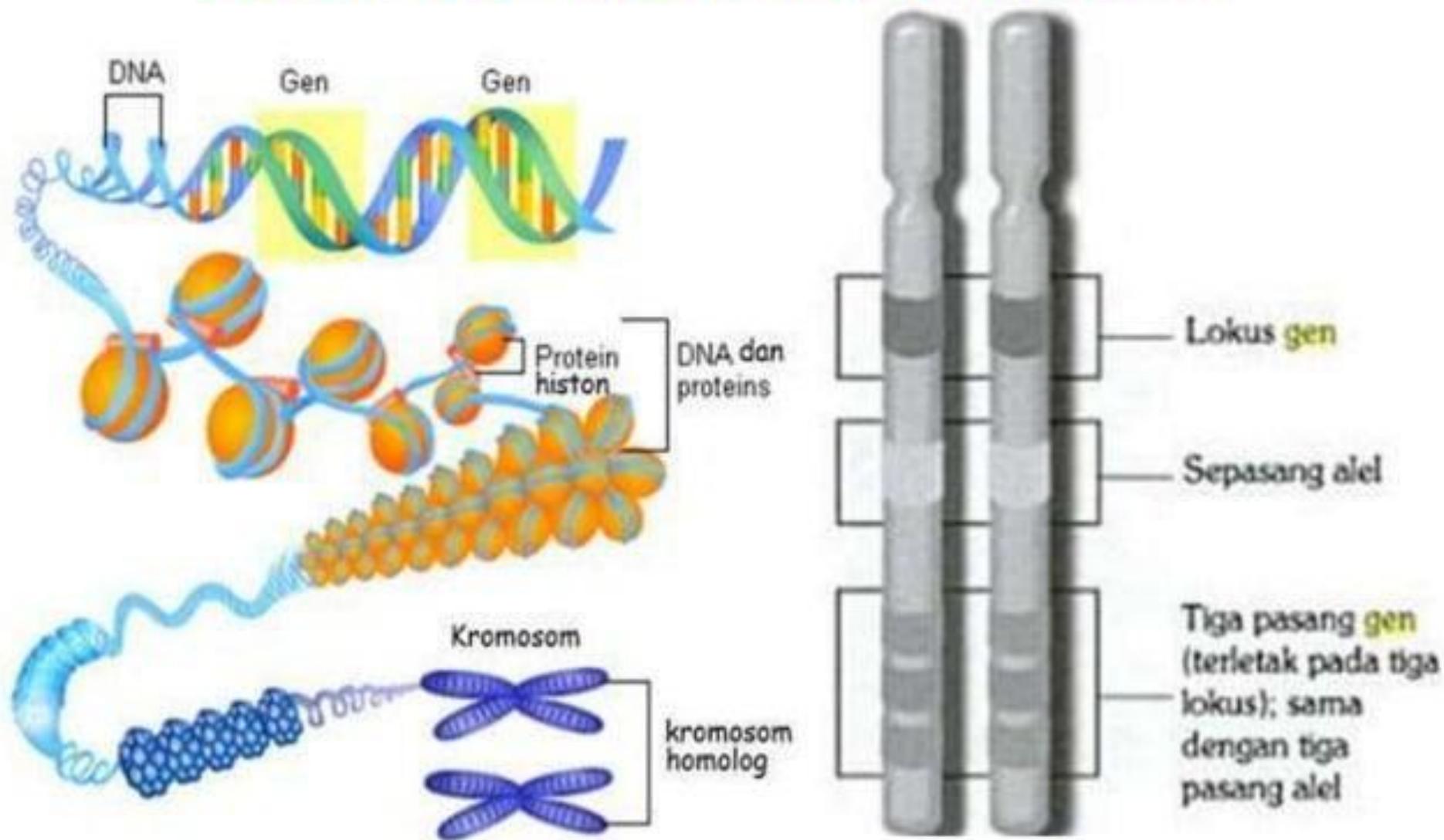
(b)

GEN

Merupakan salah satu kesatuan kimia (DNA) dalam kromosom, yaitu dalam lokus yang mengendalikan ciri genetis suatu makhluk hidup

Gen terdapat berpasangan dalam satu lokus pada kromosom homolog. masing-masing gen dalam pasangan itu disebut alel

Letak Gen dalam Kromosom



Fungsi Gen

- ❑ Mengatur perkembangan dan proses metabolisme .
- ❑ Menyampaikan informasi genetika dari suatu generasi ke generasi berikutnya.

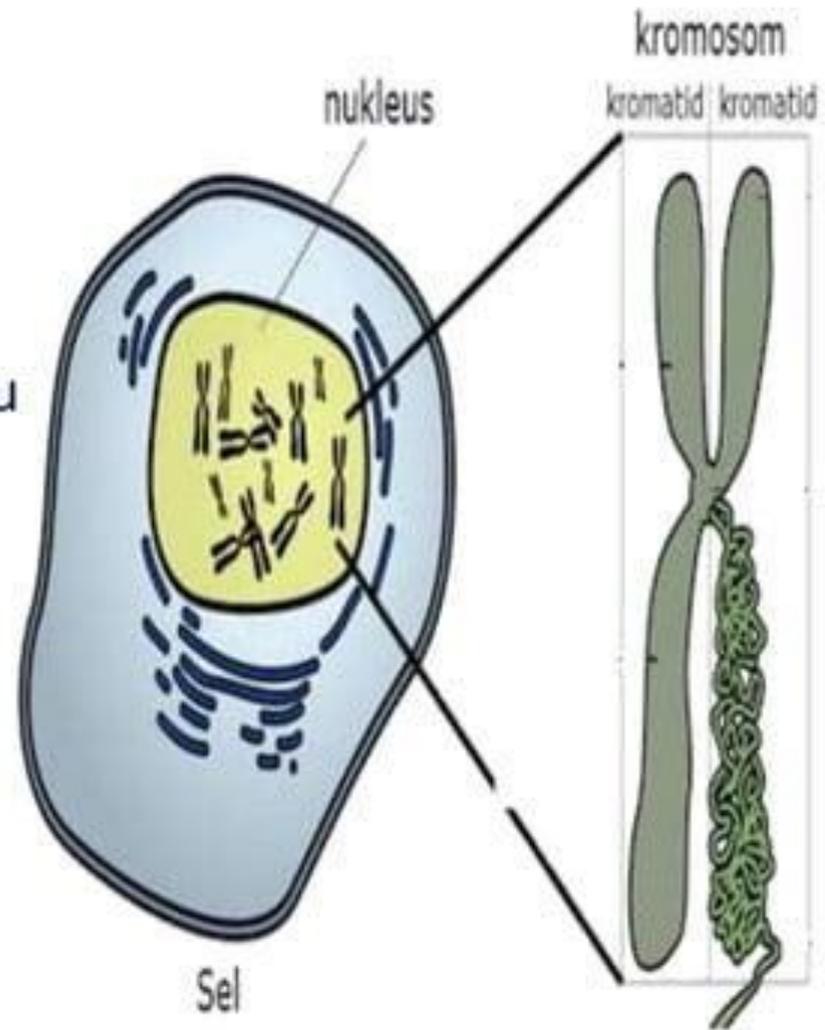
Sifat Gen

- ❑ Mengandung informasi genetic, Dapat menduplikasikan diri pada peristiwa pembelahan sel, Setiap gen mempunyai tugas dan fungsi tertentu



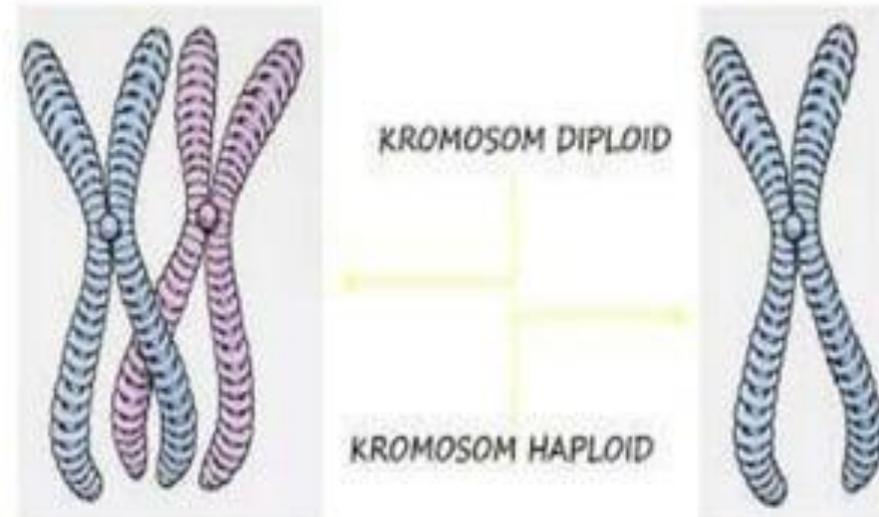
Kromosom

- ❖ Asal kata: Chroma = warna, soma = tubuh
- ❖ Struktur berupa benang batang, atau bengkok yang mengandung zat yang mudah menerina mengikat dan menyerap warna
- ❖ Kromosom terdiri dari DNA, RNA (asam ribo nukleat) dan protein
- ❖ Kromosom terdapat dalam inti sel berupa benang-benang tipis yang disebut kromatin



Pasangan Kromosom

- Kromosom dalam sel bisa berpasangan bisa juga tidak
- Sel tubuh (sel somatik) memiliki jumlah kromosom $2n$, sedangkan sel kelamin (genosom) memiliki separuh dari jumlah kromosom sel somatis

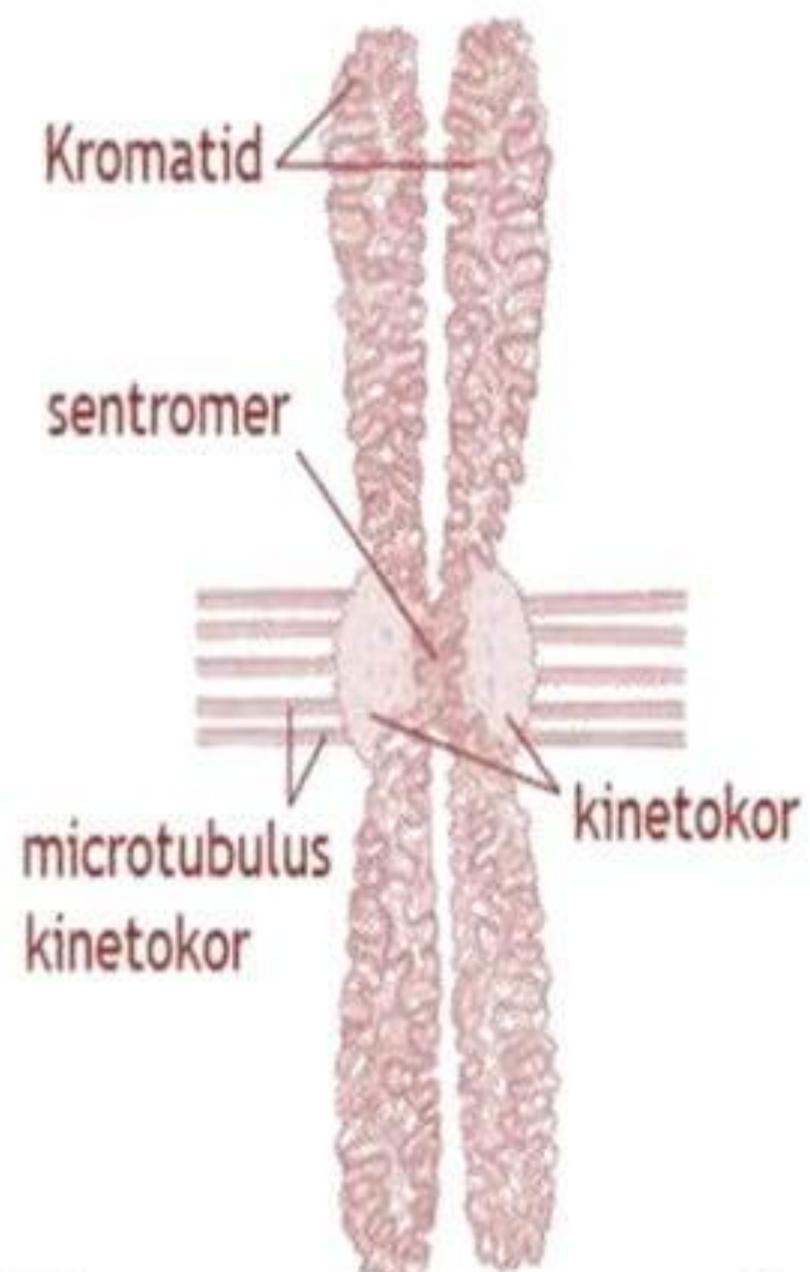
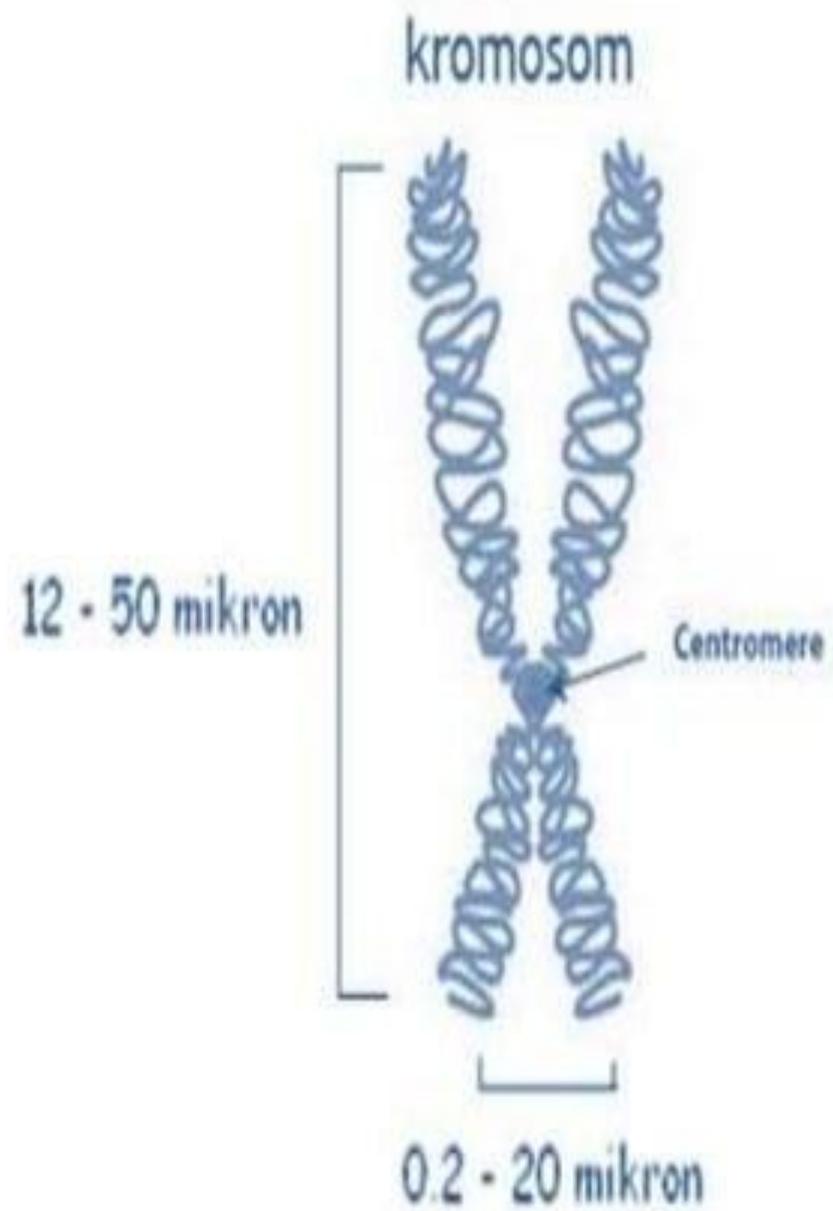


Ukuran Kromosom

- Makhluk hidup dengan jumlah kromosom sedikit memiliki kromosom dengan ukuran lebih besar dari pada makhluk hidup dengan jumlah kromosom lebih banyak
- Secara umum panjang kromosom berkisar 12 – 50 mikron, dan diameter antara 0,2 – 20 mikron

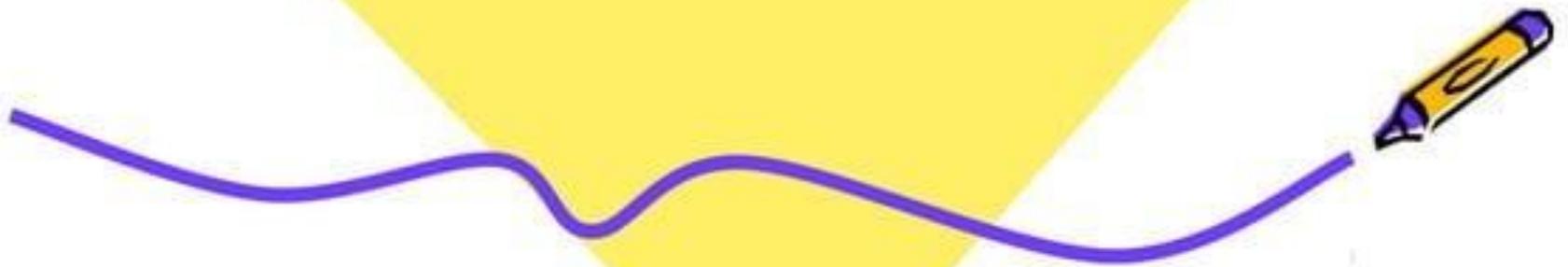
Struktur Kromosom

- Sentromer = bagian kromosom yang menyempit dan berwarna terang.
- Kinetokor merupakan tonjolan dekat sentromer yang berfungsi untuk melekat pada benang spindle
- Lengan kromosom merupakan badan yang terbagi oleh sentromer. lengan kromosom tersusun atas selaput, matriks dan kromonemata.
- Kromatid merupakan hasil duplikasi dari kromosom
- Kromonemata pita berbentuk spiral dalam kromosom
- Kromomer merupakan bahan protein yang mengendap di dalam kromonemata
- Telomer merupakan bagian dari ujung kromosom yang menghalangi bersambungnyA kromosom yang satu dengan kromosom lain
- Satelit merupakan tambahan pada ujung kromosom.



GENETIKA

REPLIKASI



Replikasi

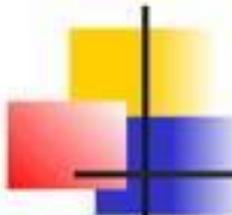


artinya: memperbanyak/ menggandakan diri.

- ❑ Replikasi diawali dg penggandaan kromosom, selanjutnya penggandaan inti & akhirnya penggandaan sel secara keseluruhan.
 - ❑ Menurut Watson & Crick: proses replikasi diawali dg terbukanya ikatan hidrogen antara pasangan basa pada molekul induk.
-

- Akibat proses replikasi maka akan dihasilkan molekul2 DNA anak persis sama dg induk.
- Replikasi t'jd pd sel2x yg msh mengalami proses pembelahan / sel2x yg msh muda. Misalnya: pd sel2x embrio.
- Replikasi pd sel yg dewasa t'jd pd daerah t'tentu. Misal: sel induk darah, kelenjar/ pd bgn tubuh yg sdg mengalami regenerasi/ penyembuhan.

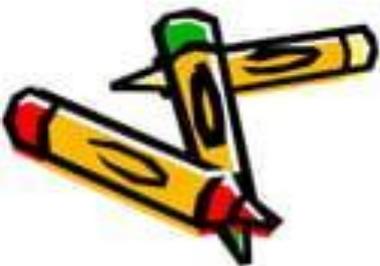
- Replikasi b'lgsg pd masa interfase, yaitu pd saat sel sdg b'siap2x melakukan p'belahan.
- Tempat t'jdnya replikasi pd kromatin.
- 2 enzim yg b'peran dlm proses replikasi:
 - a. polimerase → utk m'katalisis p'btkan DNA baru.
 - b. Ligase → utk melekatkan DNA anak pd molekul DNA induk.

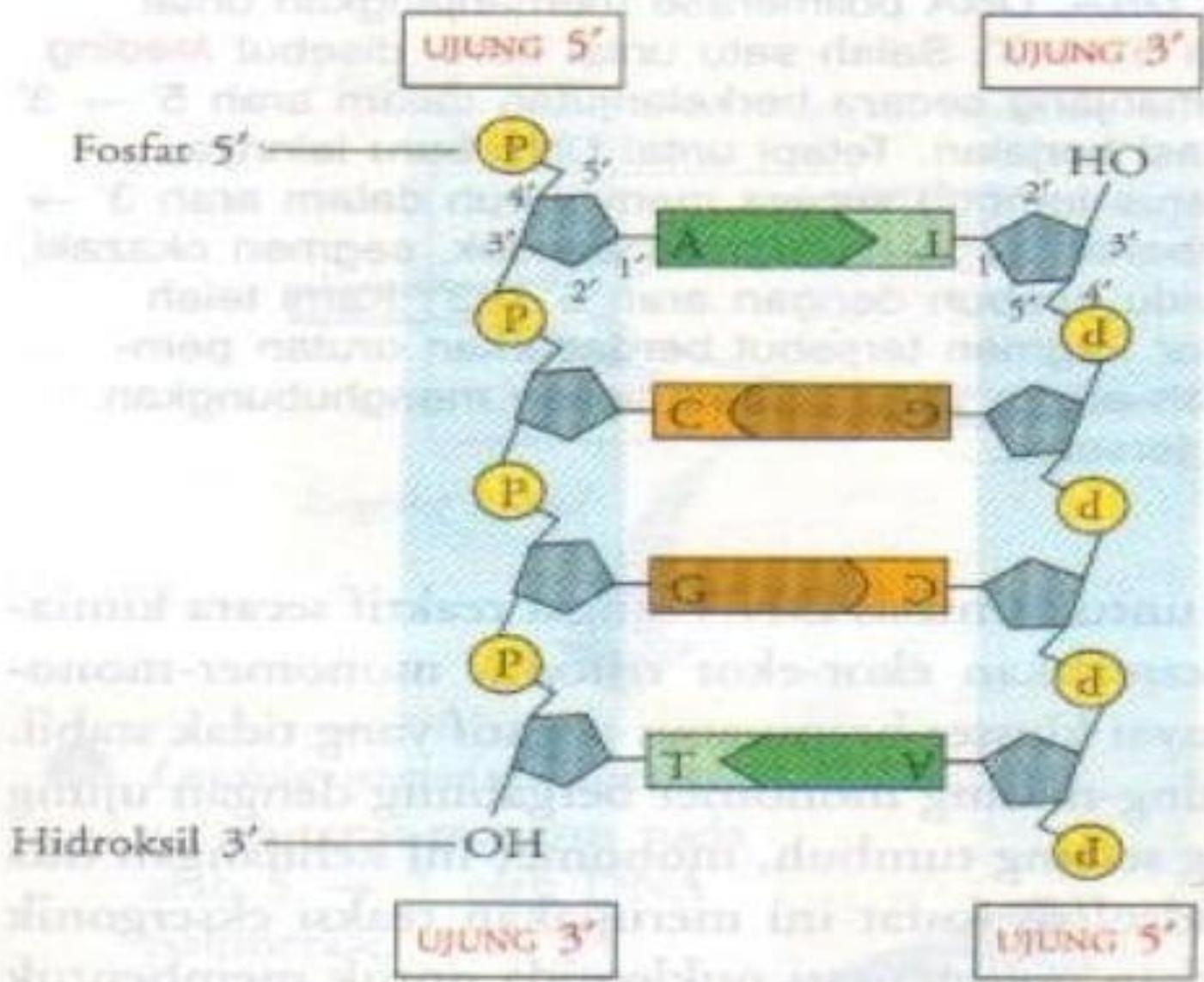


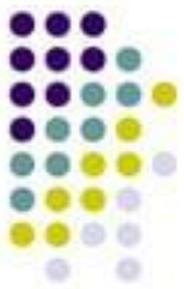
Proses Replikasi

- Pada saat enzim ADN-polimerase bergerak pada benang kromatin, maka kedua pita ADN melepaskan diri dari pilinan, kemudian masing-masing pilinan akan mencetak ADN anak. Cetakan yang dibentuk tetap dalam bentuk deoksiribosa dengan basa-basa A, T, G dan C → pasangan baru (2 pasang ADN).

- Semua enzim DNA-polimerase yg telah ditemukan menyusun rantai baru ke arah $5' \rightarrow 3'$, b'arti enzim ini membaca cetakan ke arah $3' \rightarrow 5'$.



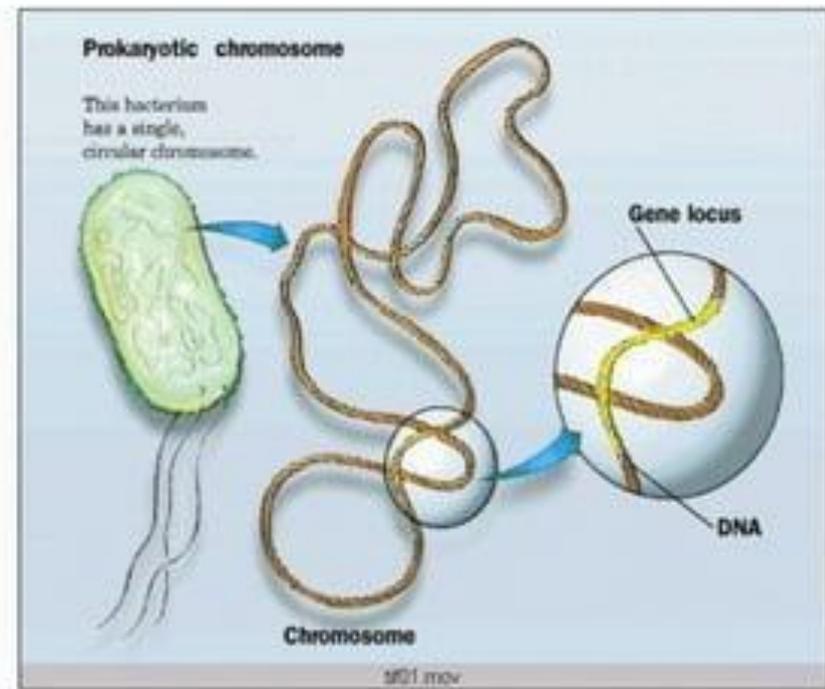
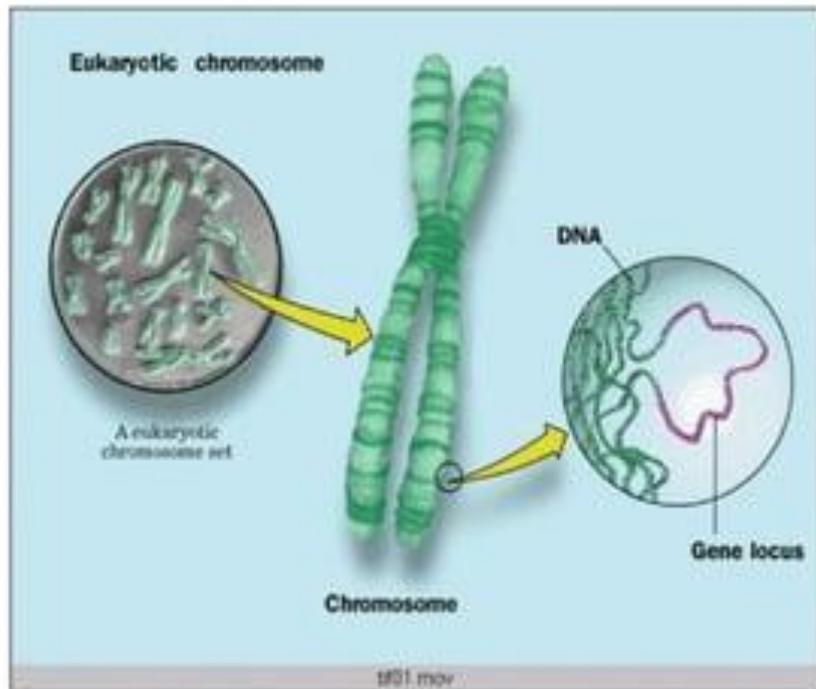




Replikasi Dua Arah

- P'cobaan John Cairns: *E. coli* ditumbuhkan dlm media thimidin yg mgd atom hidrogen radioaktif → tampak suatu jejak spt butiran perak pd lempeng → kromosom.
Tp, DNA radioaktif yg b'replikasi memperlihatkan tambahan btk simpul radioaktif.
- Hsl percobaan John Cairns → DNA sel *E. coli* b'replikasi.

Kromosom pada organisme eukariotik (kiri) dan prokariotik (kanan)



DNA Eukaryot Memiliki Banyak Titik Awal Replikasi

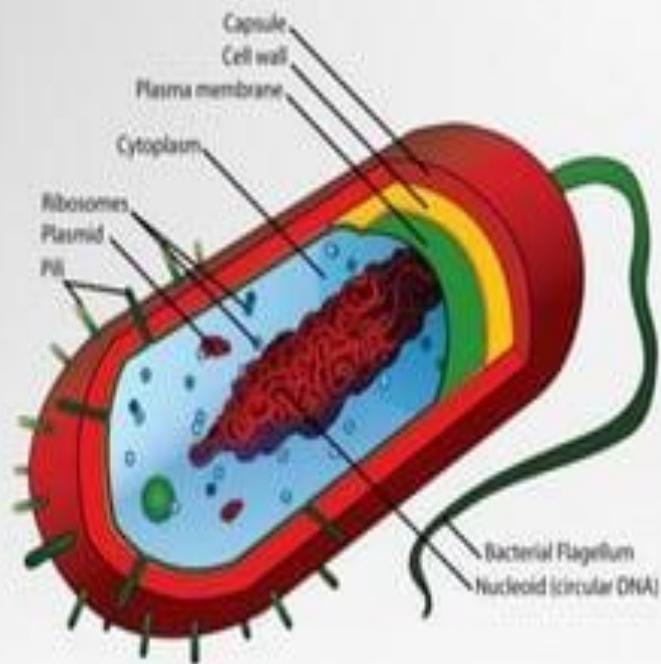
- Replikasi DNA eukaryot → scr dua arah, tp titik awal replikasi b'lgsg lambat (kurang dari 10 kecepatan *E. coli*).
 - Hsl tsb krn kromosom eukaryot sgt besar/komplek (dibutuhkan wkt 2 bln utk replikasi)
 - Tp Replikasi eukaryot (*Drosophila melanogaster*) dimulai pd byk titik awal scr serentak → 6000 titik awal replikasi yg dpt b'jln scr serentak.
 - Shg bila dibandingkan dg bakteri wkt replikasi pd eukaryot lbh cepat dr bakteri.
-



DIFFERENCE BETWEEN
PROKARYOTIC & EUKARYOTIC
DNA REPLICATION

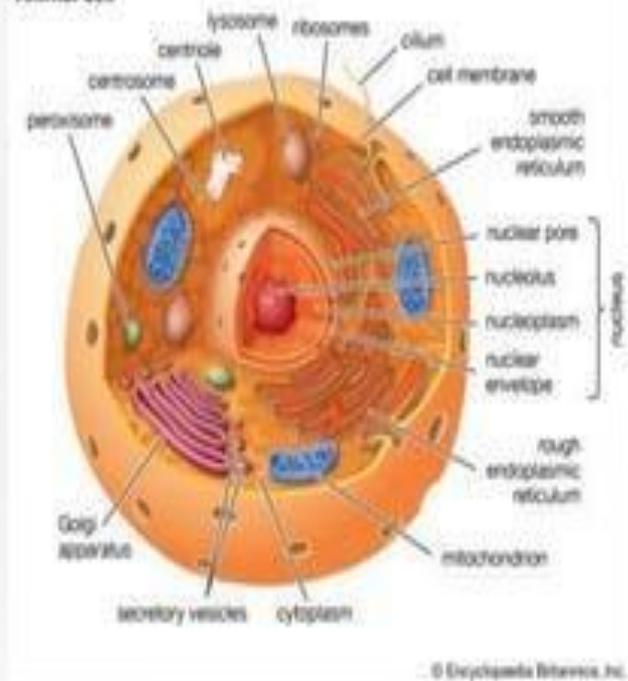
BASIC OVERVIEW OF CELLS

Prokaryotic Cell Cell



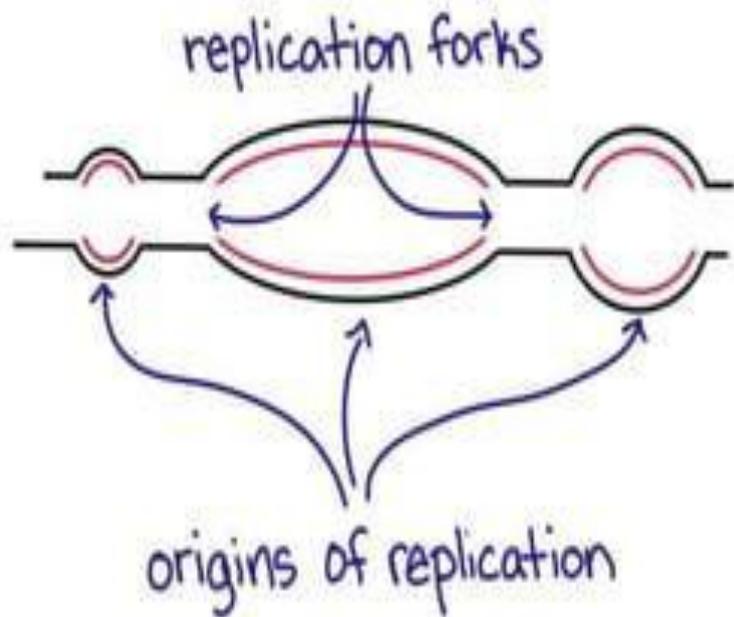
Eukaryotic

Animal cell



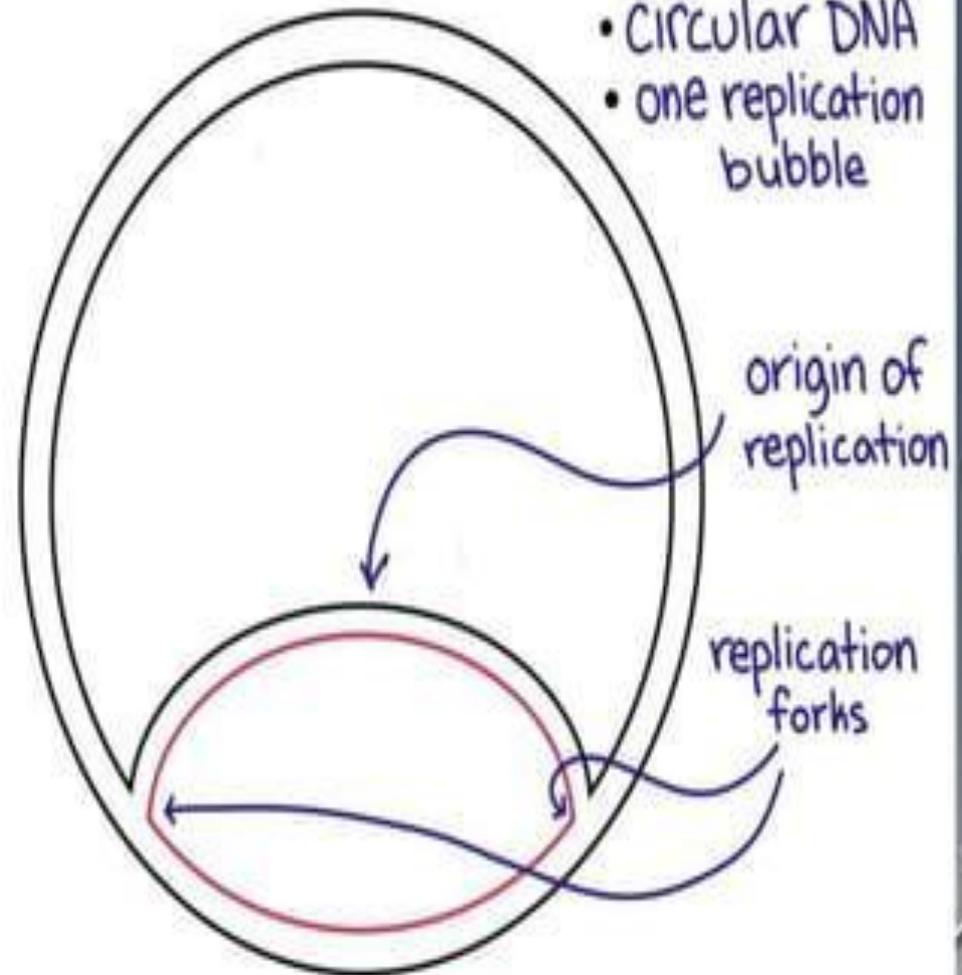
eukaryotic

- linear DNA
- multiple replication bubbles



prokaryotic

- circular DNA
- one replication bubble



Difference Between Prokaryotic and Eukaryotic DNA Replication

Definition

Prokaryotic DNA Replication: Prokaryotic DNA replication is the process by which a prokaryotic organism duplicates its entire genome in order to pass the second copy to a daughter cell.

Eukaryotic DNA Replication: Eukaryotic DNA replication is the process by which the eukaryotic genome duplicates prior to cell division.

Occurrence

Prokaryotic DNA Replication: Prokaryotic DNA replication is a continuous process.

Eukaryotic DNA Replication: Eukaryotic DNA replication occurs during the S phase of the cell cycle.

Location

Prokaryotic DNA Replication: Prokaryotic DNA replication takes place in the cytoplasm.

Eukaryotic DNA Replication: Eukaryotic DNA replication takes place in the nucleus.

Type of DNA

Prokaryotic DNA Replication: Prokaryotic DNA is circular and double-stranded.

Eukaryotic DNA Replication: Eukaryotic DNA is linear and double-stranded with ends.

Packaging

Prokaryotic DNA Replication: Prokaryotic DNA forms loop-like structures by molecules.

Eukaryotic DNA Replication: Eukaryotic DNA forms nucleosomes and shows higher **Origin of Replication**

Prokaryotic DNA Replication: Prokaryotic DNA consists of a single origin of

Eukaryotic DNA Replication: Eukaryotic DNA consists of multiple origins of **DNA Polymerases**

Prokaryotic DNA Replication: Prokaryotic DNA replication is carried out by DNA

Eukaryotic DNA Replication: Eukaryotic DNA replication is carried by DNA

Size of the Okazaki Fragment

Prokaryotic DNA Replication: The Okazaki fragments are comparatively large,

Eukaryotic DNA Replication: The Okazaki fragments are small, around 100–200

DNA Gyrase

Prokaryotic DNA Replication: DNA gyrase is involved in the prokaryotic DNA

Eukaryotic DNA Replication: DNA gyrase is not required for the eukaryotic DNA

Rate of DNA replication

Prokaryotic DNA Replication: Prokaryotic DNA replication is a rapid process and around 2000 nucleotides are added per second.

Eukaryotic DNA Replication: Eukaryotic DNA replication is a slow process and around 100 nucleotides are added per second.

End Synthesis

Prokaryotic DNA Replication: Prokaryotic DNA does not contain ends.

Eukaryotic DNA Replication: Telomerase is involved in the end synthesis in Eukaryotic DNA during the replication.

Final Product of the Replication

Prokaryotic DNA Replication: The final product of the prokaryotic DNA replication is two circular chromosomes.

Eukaryotic DNA Replication: The final product of the eukaryotic DNA replication is two sister chromatids.



REFERENCE:

1. "DNA REPLICATION IN PROKARYOTES." BOUNDLESS. N.P
2. "DNA REPLICATION IN EUKARYOTES." BOUNDLESS. N.P
- 3."DNA REPLICATION EN" BY LADYOFHATS MARIANA

4. "REPLICATION COMPLEX" BY BOUMPHREYFR – OWN WORK ([CC BY-SA 3.0](#)) VIA [COMMONS WIKIMEDIA](#)
5. "DNA BUBBLES2" BY BOUMPHREYFR – OWN WORK ([CC BY-SA 3.0](#)) VIA [COMMONS WIKIMEDIA](#)

SAVE

THANK YOU

@Jackson chary

Biologi Molekuler Sel

POST TRANSCRIPTION AND TRANSLATION

PERTEMUAN KE12

29/11/2024

APT., DESI NOVITA REVIANAWATI, M.FARM

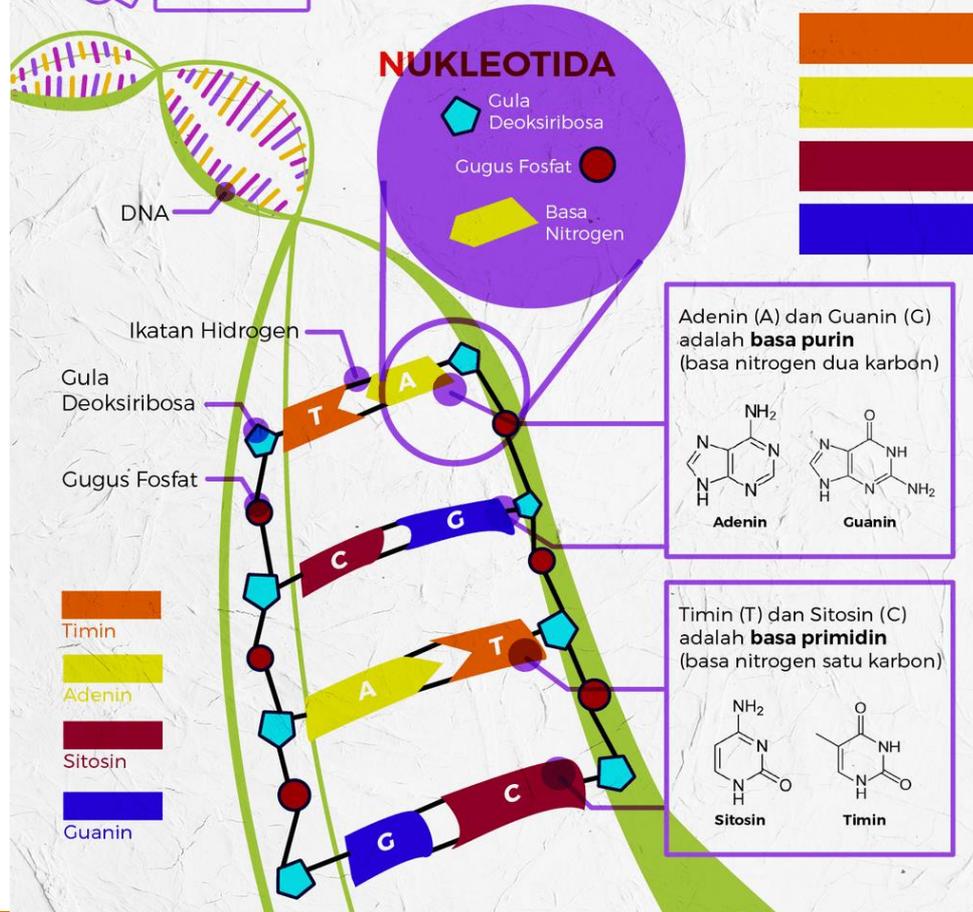
STRUKTUR DNA

DNA adalah kumpulan materi genetik yang satuan molekulnya disebut nukleotida.

Setiap nukleotida terdiri atas basa nitrogen, gula deoksiribosa, dan gugus fosfat.

Basa nitrogen DNA selalu berpasangan antara kelompok purin dan pirimidin.

Basa purin yaitu Adenin (A) dan Guanin (G), sedangkan basa pirimidin yaitu Sitosin (C) dan Timin (T). Urutan tiga macam basa nitrogen disebut kodon, misalnya GGA. Kodon merupakan materi penyusun asam amino.



TRANSCRIPTION

Transkripsi adalah proses penyalinan kode-kode genetik yang ada pada urutan DNA menjadi molekul RNA.

Transkripsi adalah proses yang mengawali ekspresi sifat-sifat genetik yang nantinya akan muncul sebagai fenotip.

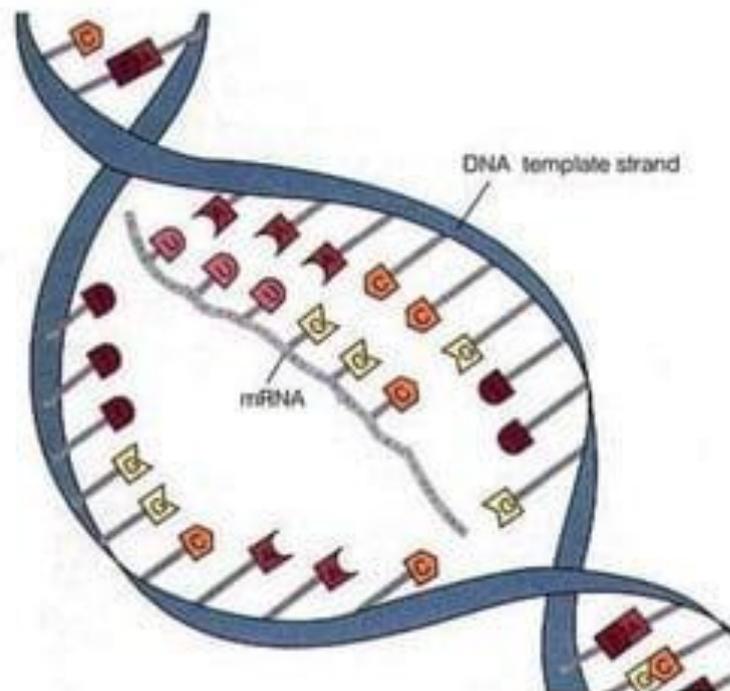
Transkripsi terjadi di dalam nukleus.

RNA yang dihasilkan dari proses transkripsi ada 3, yaitu:

1. mRNA (messenger RNA)
2. tRNA (transfer RNA)
3. rRNA (ribosomal RNA)

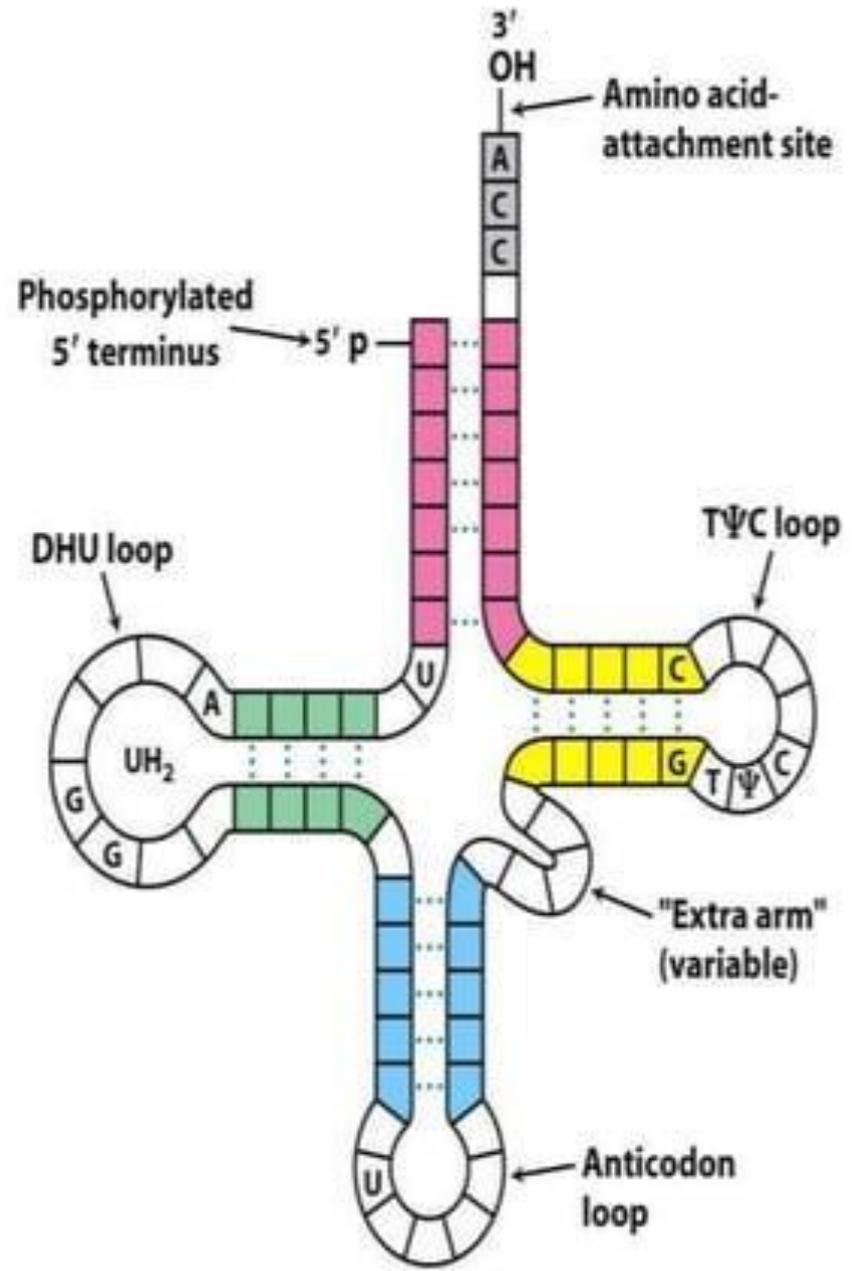
mRNA (messenger RNA)

adalah RNA yang merupakan salinan kode genetik pada DNA yang akan masuk proses translasi dan akan diterjemahkan menjadi urutan asam-asam amino yang menyusun suatu polipeptida atau protein tertentu.
Dikode gen kelas II.



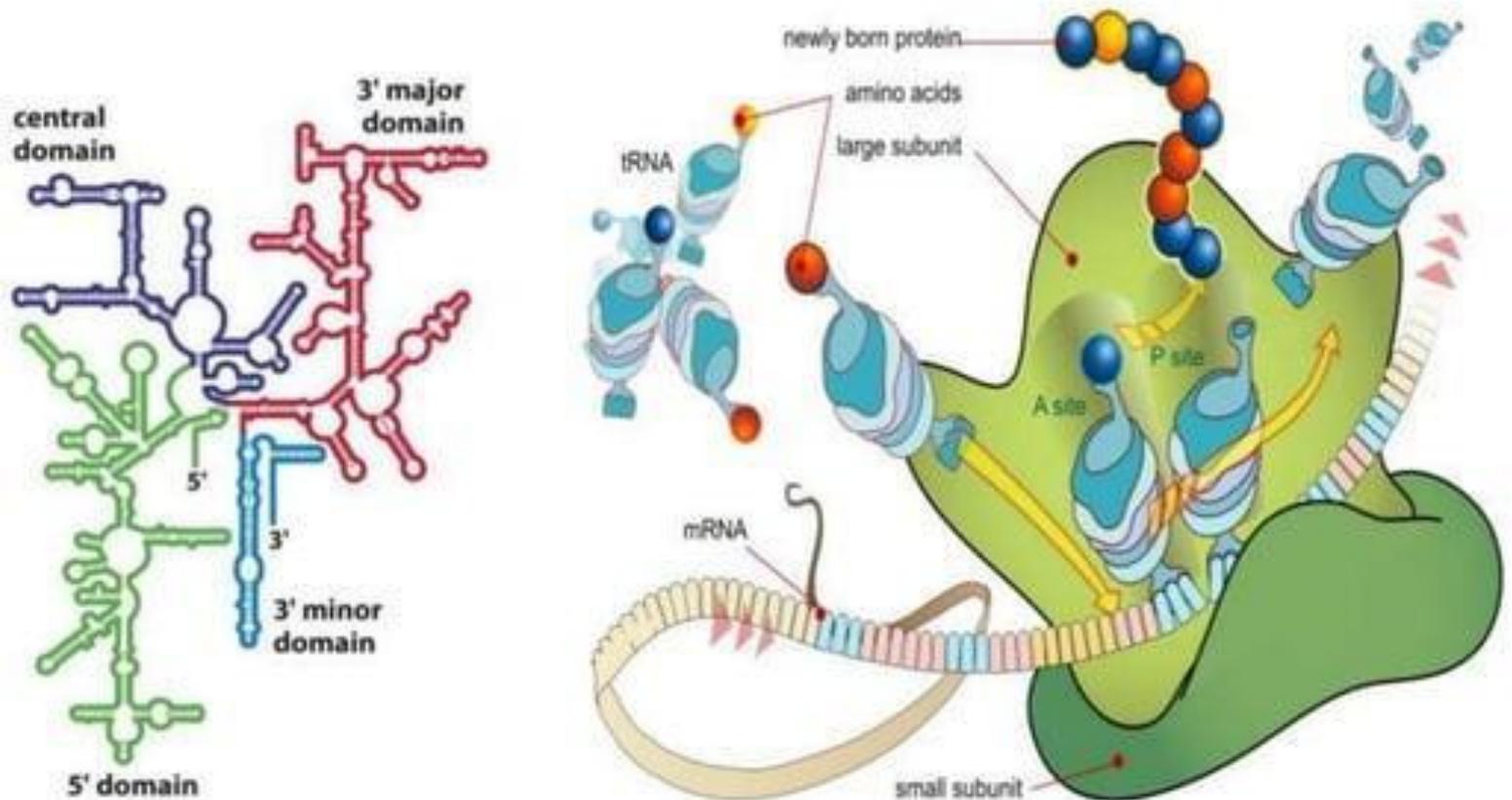
tRNA (transfer RNA)

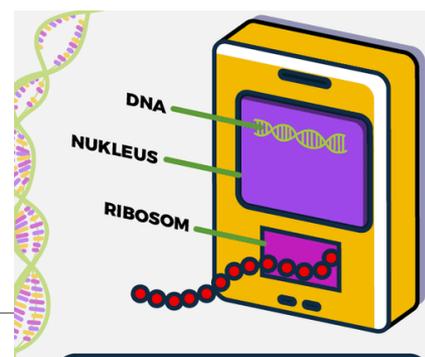
adalah RNA yang berperan membawa asam-asam amino spesifik yang akan digabungkan dalam proses translasi. Dikode gen kelas III.



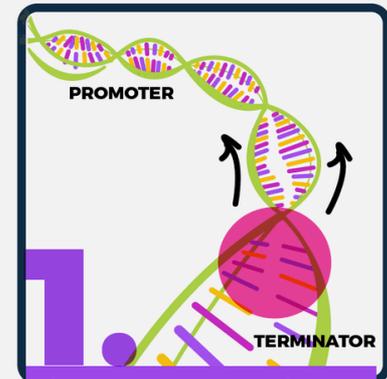
rRNA (ribosomal RNA)

adalah RNA yang digunakan untuk menyusun ribosom (tempat sintesis protein). Dikode oleh gen kelas I.

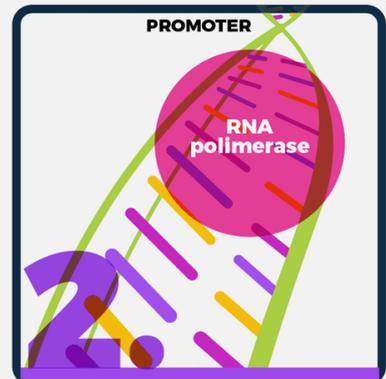




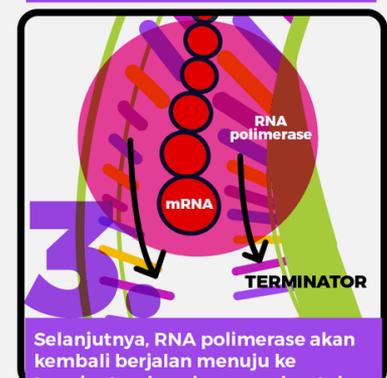
DNA terletak di nukleus. Proses pembentukan protein terjadi di ribosom. Karena letak nukleus dan ribosom berjauhan, maka dibutuhkan RNA polimerase untuk datang ke DNA.



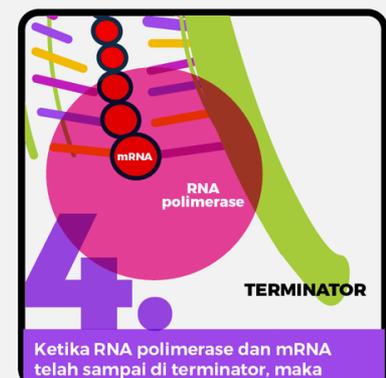
Di dalam nukleus, RNA polimerase akan memisahkan untai DNA menjadi dua dengan cara bergerak dari terminator ke promoter.



Ketika RNA polimerase sampai di promoter maka proses ini dinamakan **inisiasi**.



Selanjutnya, RNA polimerase akan kembali berjalan menuju ke terminator dan akan membentuk mRNA. Proses ini dinamakan **elongasi**.

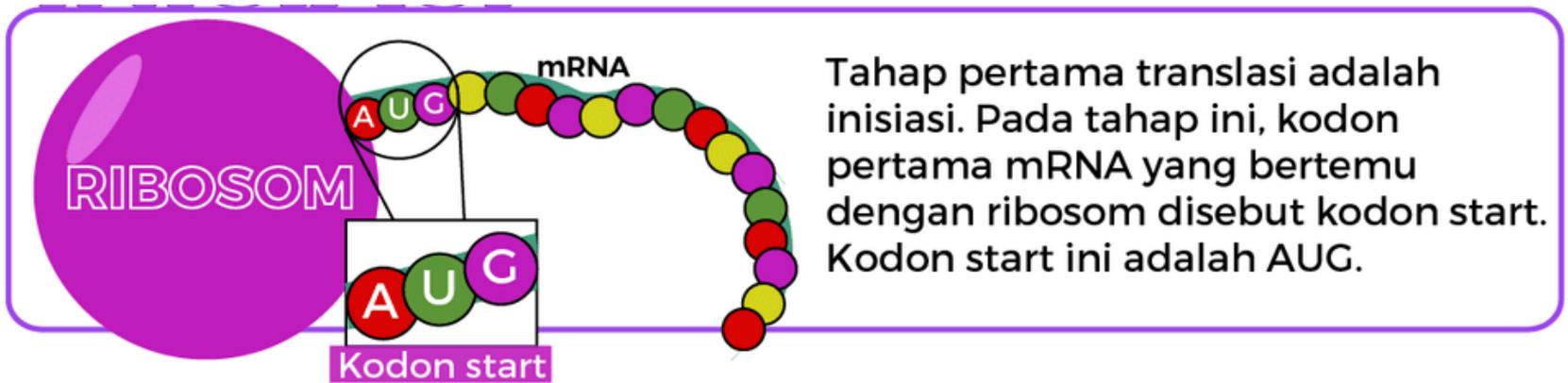


Ketika RNA polimerase dan mRNA telah sampai di terminator, maka proses transkripsi selesai. Terminasi adalah proses akhir dari transkripsi.

Mekanisme Proses Transkripsi adalah:

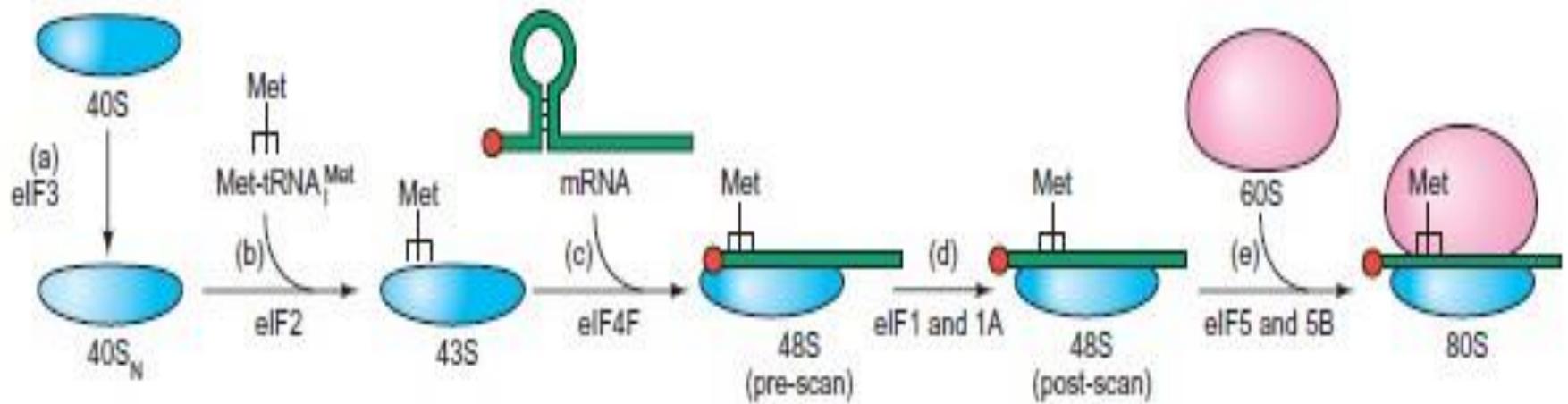
1. **inisiasi** (penempelan faktor transkripsi/protein dan enzim Polimerase III pada daerah promoter)
2. **elongasi** (pemanjangan untai RNA) dibantu oleh **enzim Polimerase III**
3. **terminasi** (pengakhiran) terjadi didaerah terminator

Inisiasi

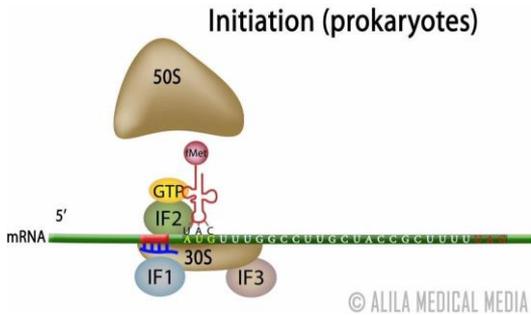


Tahap pertama translasi adalah inisiasi. Pada tahap ini, kodon pertama mRNA yang bertemu dengan ribosom disebut kodon start. Kodon start ini adalah AUG.

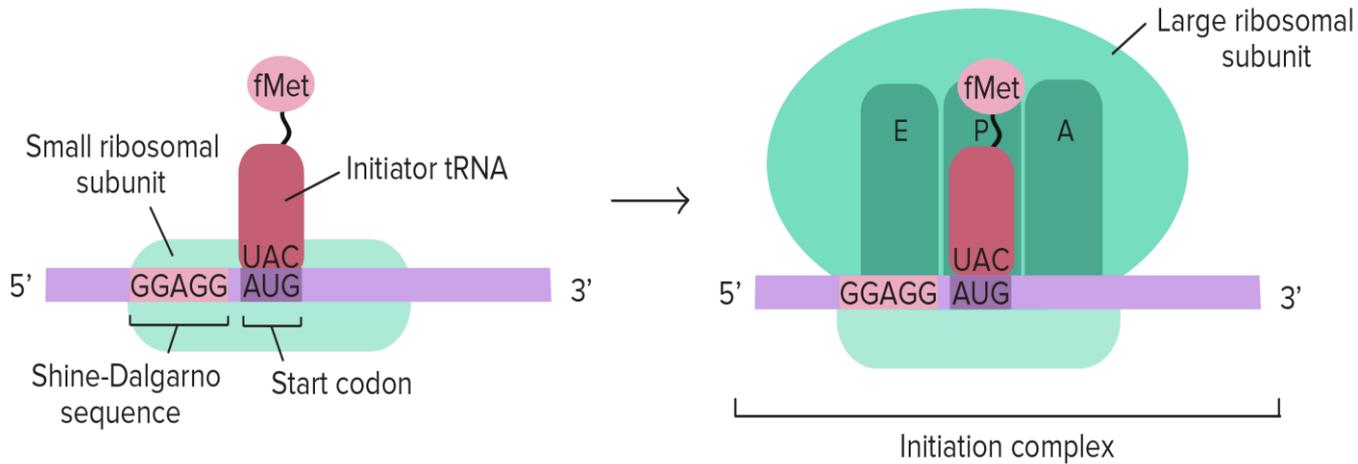
Inisiasi Translasi EUKARIOTA



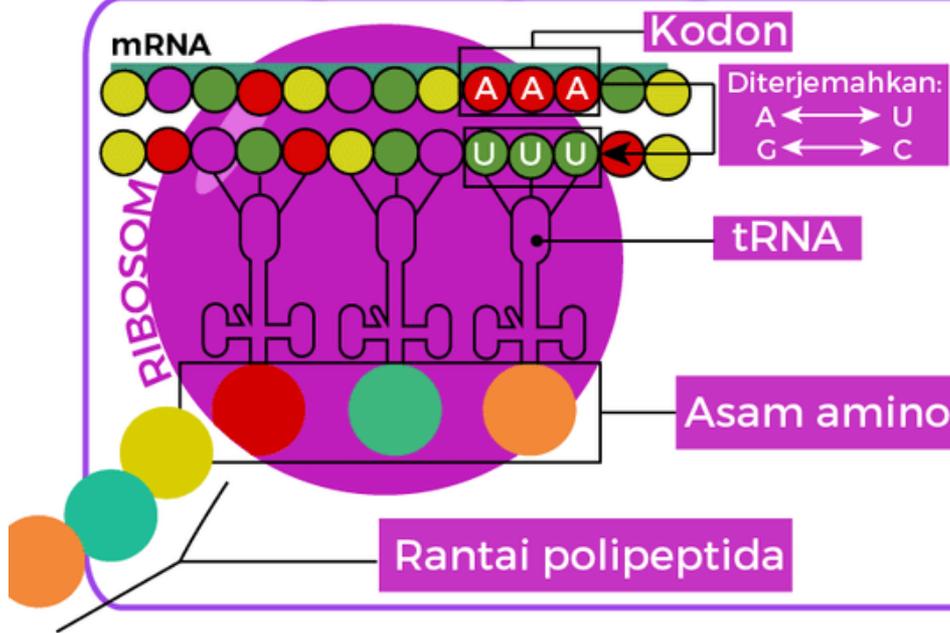
Inisiasi Translasi PROKARIOT



Bacterial translation initiation



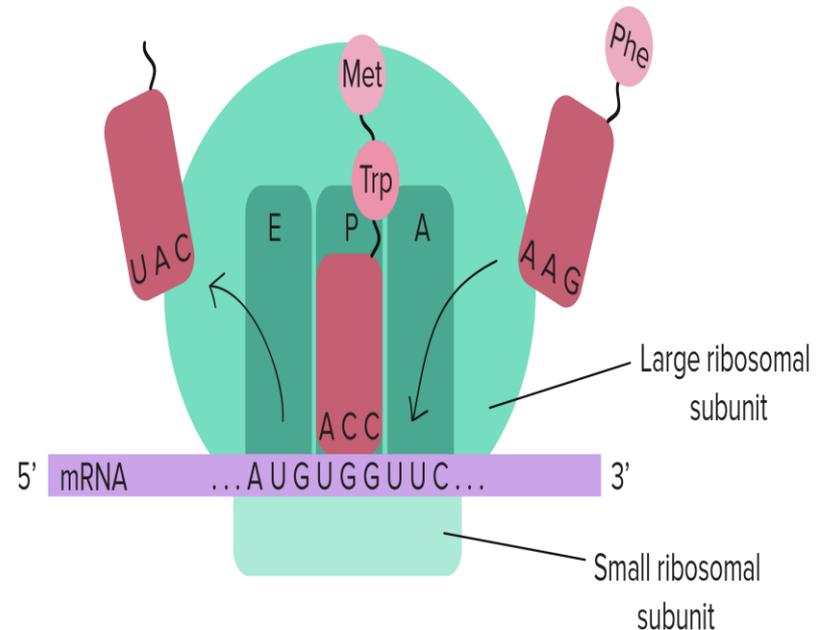
ELONGASI



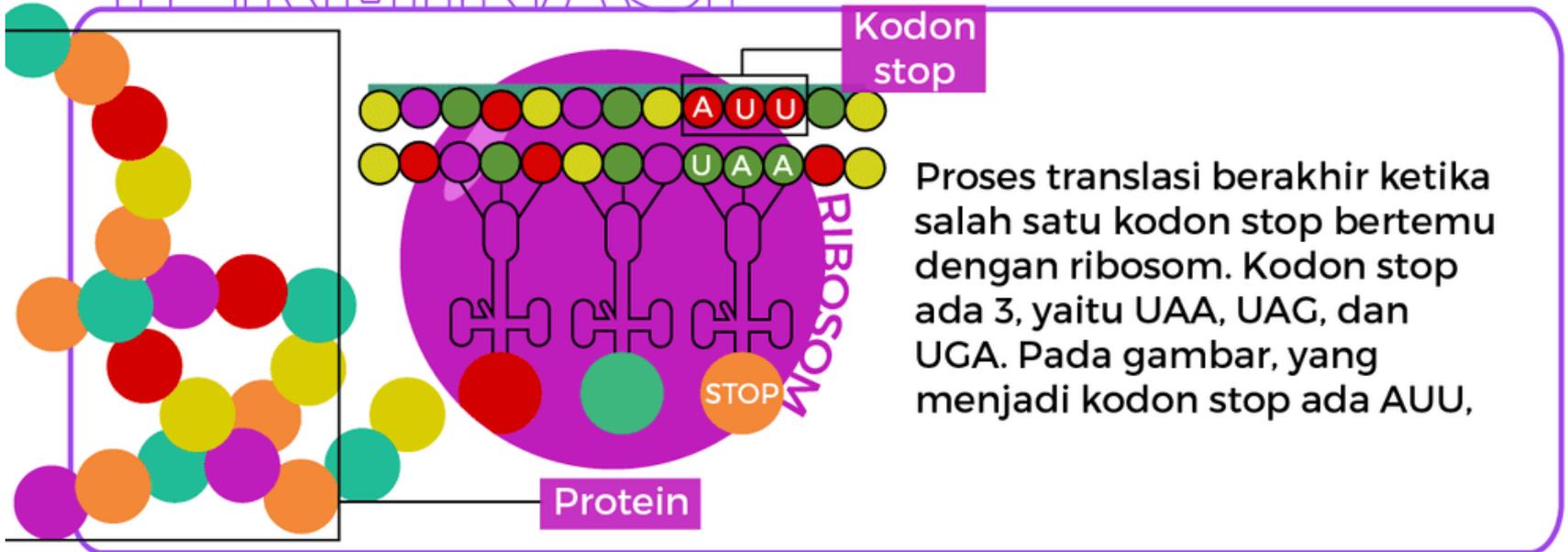
Tahap setelah inisiasi adalah elongasi. Pada tahap ini, kodon yang dibawa mRNA akan diterjemahkan menjadi asam amino. Setelah itu, masing-masing asam amino akan digabungkan oleh tRNA (membawa asam amino untuk disusun menjadi protein). Gabungan dari asam amino tersebut akan membentuk rantai polipeptida.

Elogasi

1. Pengikatan aminoasil-tRNA pada sisi A yang ada di ribosom. Penyisipan aminoasil-tRNA ke posisi A dilakukan oleh protein yang disebut faktor pemanjangan Tu (elongation factor TU, EF-Tu)
2. Pemindahan rantai polipeptida yang tumbuh dari tRNA yang ada pada sisi P (peptidyl) ke arah sisi A dengan membentuk ikatan peptide oleh enzim ***Peptidyl Transfase***
3. Translokasi ribosom sepanjang mRNA ke posisi kodon selanjutnya yang ada di sisi A, sedangkan tRNA kosong yang tadinya menempati sisi P ditranslokasi ke sisi E (exit). Proses translokasi ini membutuhkan GTP dan faktor pemanjangan G (elongation factor –G, EF-G)

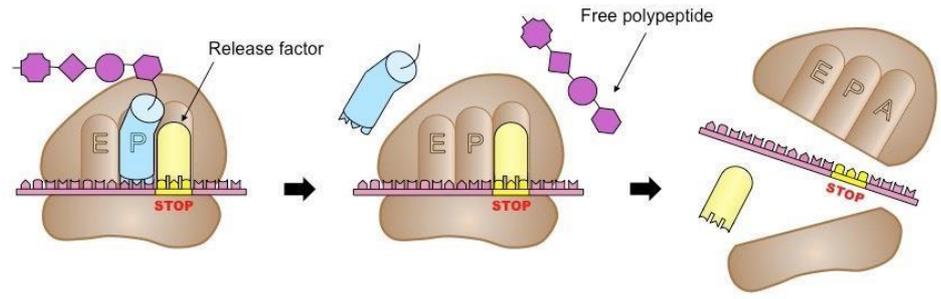


TERMINASI



Proses translasi berakhir ketika salah satu kodon stop bertemu dengan ribosom. Kodon stop ada 3, yaitu UAA, UAG, dan UGA. Pada gambar, yang menjadi kodon stop ada AUU,

Terminasi



- Berakhir ketika mencapai ketiga kodon terminasi : UAA, UGA UAG
- Sinyal penghentian
 - Pada prokariot : release factor (RF)
 - RF 1: UAA atau UAG, RF 2 : UAA atau UGA
 - Pada eukariot : release factor (eRF).
- Penempelan RF mengaktifkan enzim peptidyl transferase yang menghidrolisis ikatan antara polipeptida dengan tRNA pada sisi P dan menyebabkan tRNA yang kosong mengalami translokasi ke sisi E.
- Ribosom kemudian akan terdisosiasi dan dapat digunakan untuk sintesis protein berikutnya



Mekanisme Pasca-Transkripsi adalah:

1. *RNA splicing* (pemotongan dan penyambungan RNA)

terjadi peristiwa pemotongan intron menggunakan **enzim endonuklease** dan penyambungan ekson menggunakan **enzim ligase**

2. *poliadenilasi* (penambahan gugus poli-A pada ujung 3' mRNA sepanjang 50-250 nukleotida) dibantu **enzim poli(A)polimerase**.

3. *penambahan tudung (cap)* pada ujung 5' mRNA cap itu adalah 7-metilguanosisin.

4. *penyuntingan mRNA (RNA editing)*



TRANSLATION

Translasi adalah proses penerjemahan urutan nukleotida yang ada pada molekul mRNA menjadi rangkaian asam-asam amino yang menyusun suatu polipeptida atau protein.

Hanya mRNA yang ditranslasi, sedangkan tRNA dan rRNA tidak.

mRNA berbentuk ORF (open reading frame). Ciri-ciri ORF adalah:

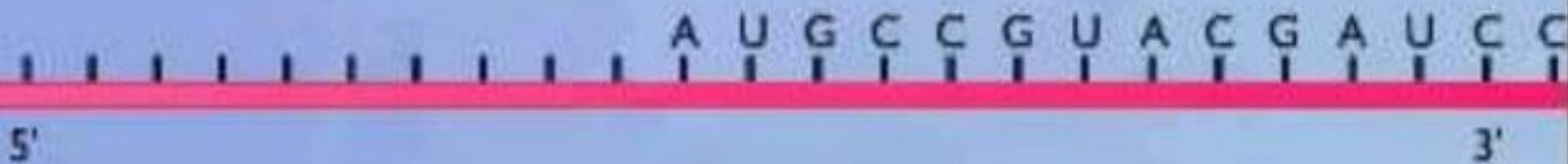
1. **kodon inisiasi translasi (AUG)**
2. **urutan nukleotida yang menyusun kodon**
kodon adalah urutan 3 nukleotida/triplet codon yang menyandi suatu asam amino.
3. **kodon terminasi translasi (UAA, UAG, UGA)**

Translasi terjadi di dalam ribosom.

Ribosom disusun oleh molekul-molekul rRNA dan beberapa macam protein. Ribosom tersusun atas 2 subunit yaitu **subunit kecil dan subunit besar**.

Mekanisme Proses Translasi adalah:

1. **inisiasi** (kodon inisiasi adalah metionin/AUG)
2. **elongasi** (pemanjangan untai polipeptida)
3. **terminasi** (pengakhiran)
terjadi pada kodon UAA/UAG/UGA



video

<https://cdn-web.ruangguru.com/landing-pages/assets/hs/Biologi%20Kelas%2011%20%7C%20Tahapan%20Sintesis%20Protein.gif>

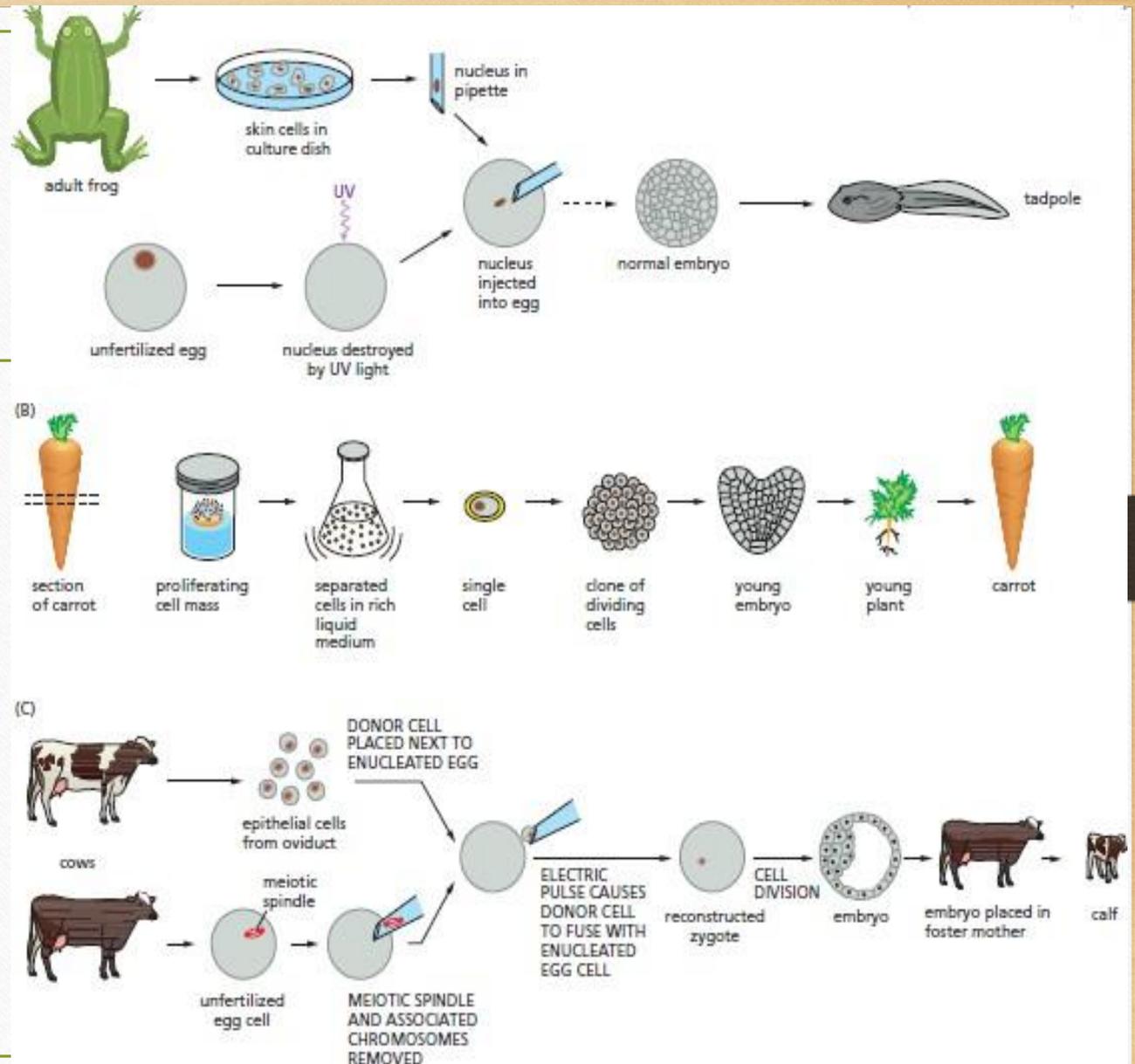
Biologi Sel Molekuler

PENGENDALIAN EKSPRESI GENETIK

Desi Novita Revianawati

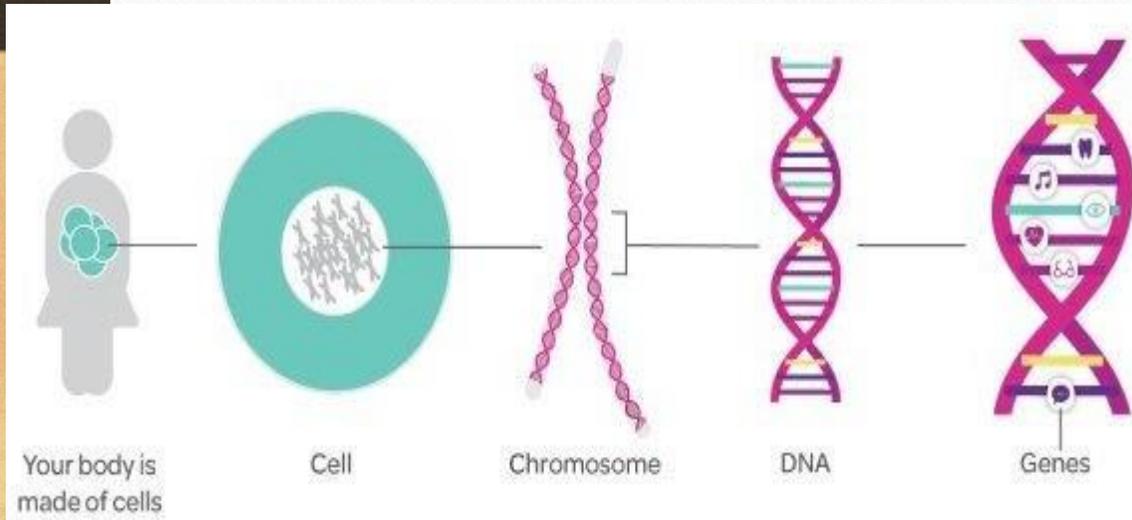
EKSPRESI GEN

- **Ekspresi gen** adalah proses dimana informasi dari gen digunakan dalam sintesis produk gen fungsional yang memungkinkan untuk menghasilkan produk akhir, protein atau RNA non-coding, dan akhirnya mempengaruhi fenotipe, sebagai efek akhir.
- Sel membaca urutan gen dalam kelompok tiga basa. Setiap kelompok tiga basa (kodon) sesuai dengan salah satu dari 20 asam amino berbeda yang digunakan untuk membangun protein



PENGENDALIAN EKSPRESI GEN

- Ekspresi gen perlu dikendalikan → sel kehilangan banyak energi → merugikan bagi jasad hidup



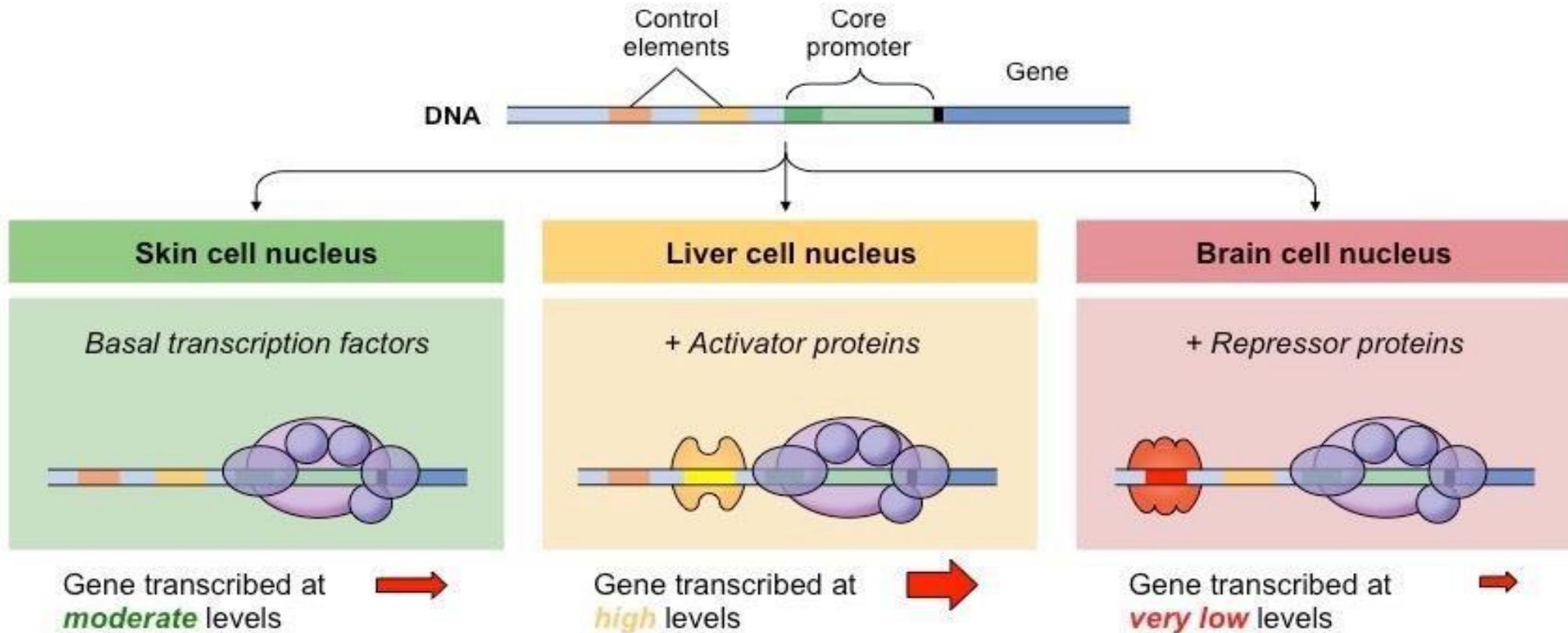
Ekspresi gen secara konstitutif

- Gen-gen yang selalu diekspresikan dalam keadaan apapun
- Gen yang bertanggung jawab dalam metabolisme dasar : metabolisme energi

Ekspresi gen secara induktif

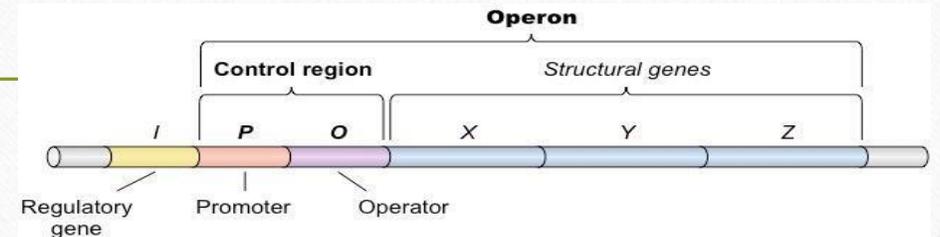
- Gen yang diekspresikan dalam keadaan tertentu atau terdapat proses induksi

PENGENDALIAN EKSPRESI



PENGENDALIAN EKSPRESI GEN PROKARIOT

- Operon



- Kelompok gen struktural yang diekspresikan secara Bersama-sama menggunakan satu promoter yang sama
- Gen yang terlibat dalam suatu rangkaian reaksi metabolisme yang sama
- Contohnya : metabolisme laktosa, arabinosa, dll.

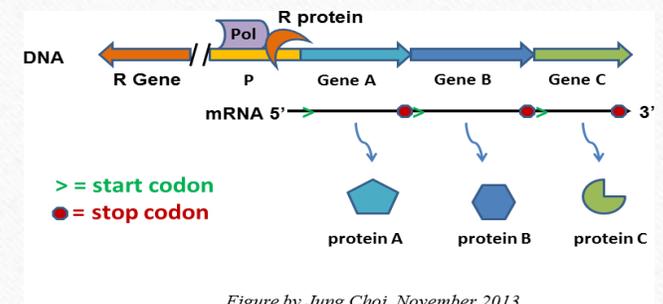


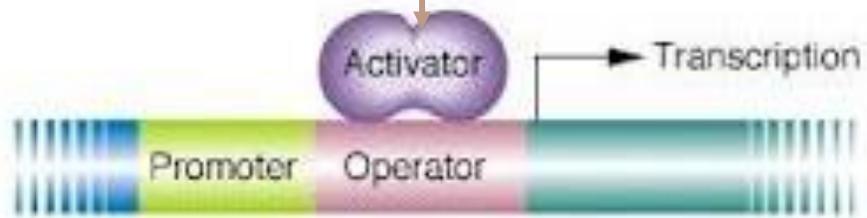
Figure by Jung Choi, November 2013

PENGENDALIAN EKSPRESI GEN PROKARIOT

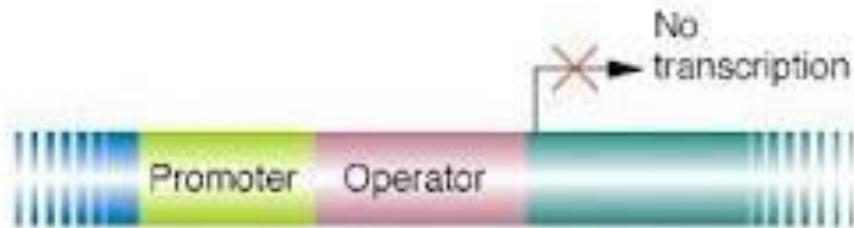
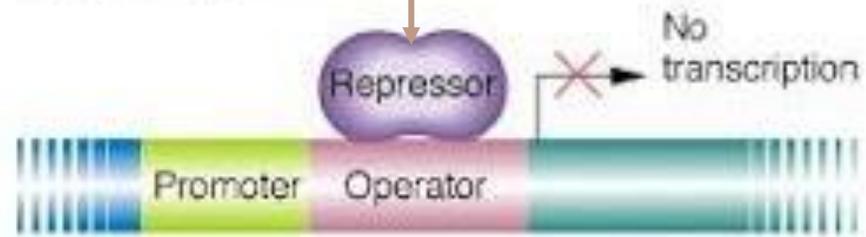
GEN REGULATOR

Operon tersebut dapat **diaktifkan** oleh produk ekspresi gen regulator

Positive regulation



Negative regulation



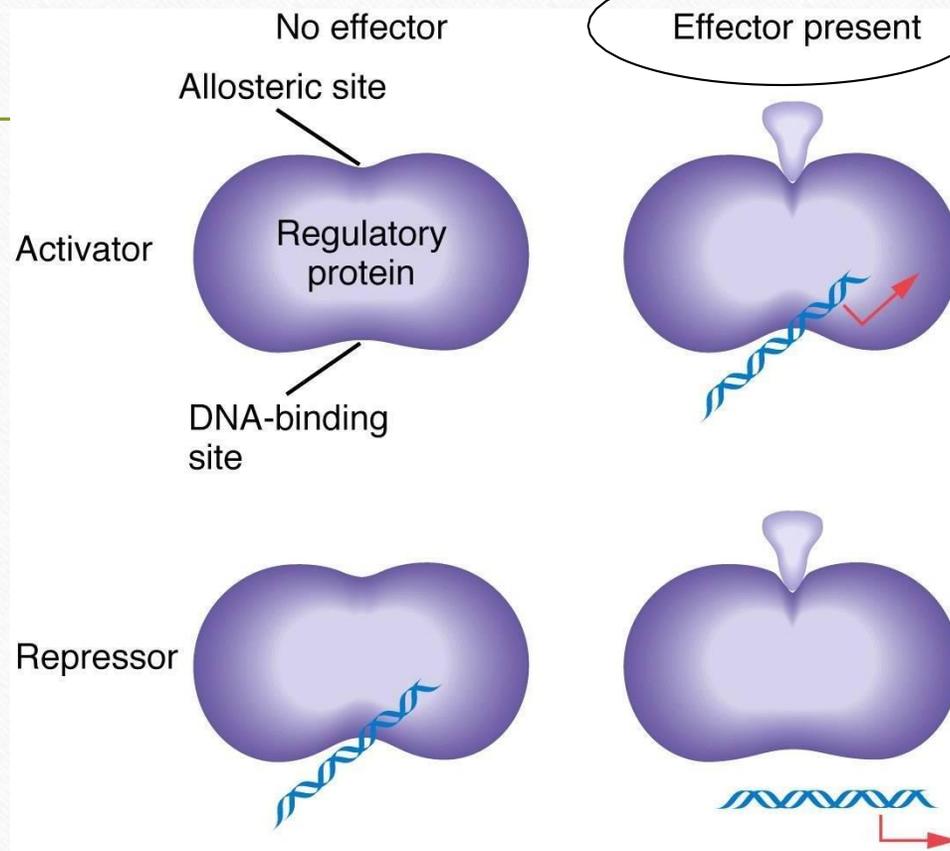
(No activator)



(No repressor)

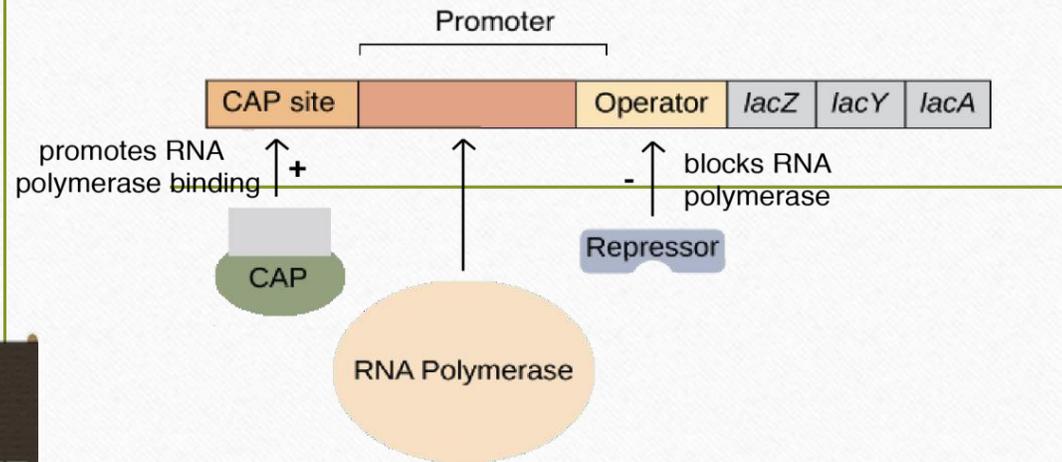
Operon **dinonaktifkan** oleh gen regulator

PENGENDALIAN EKSPRESI GEN PROKARIOT

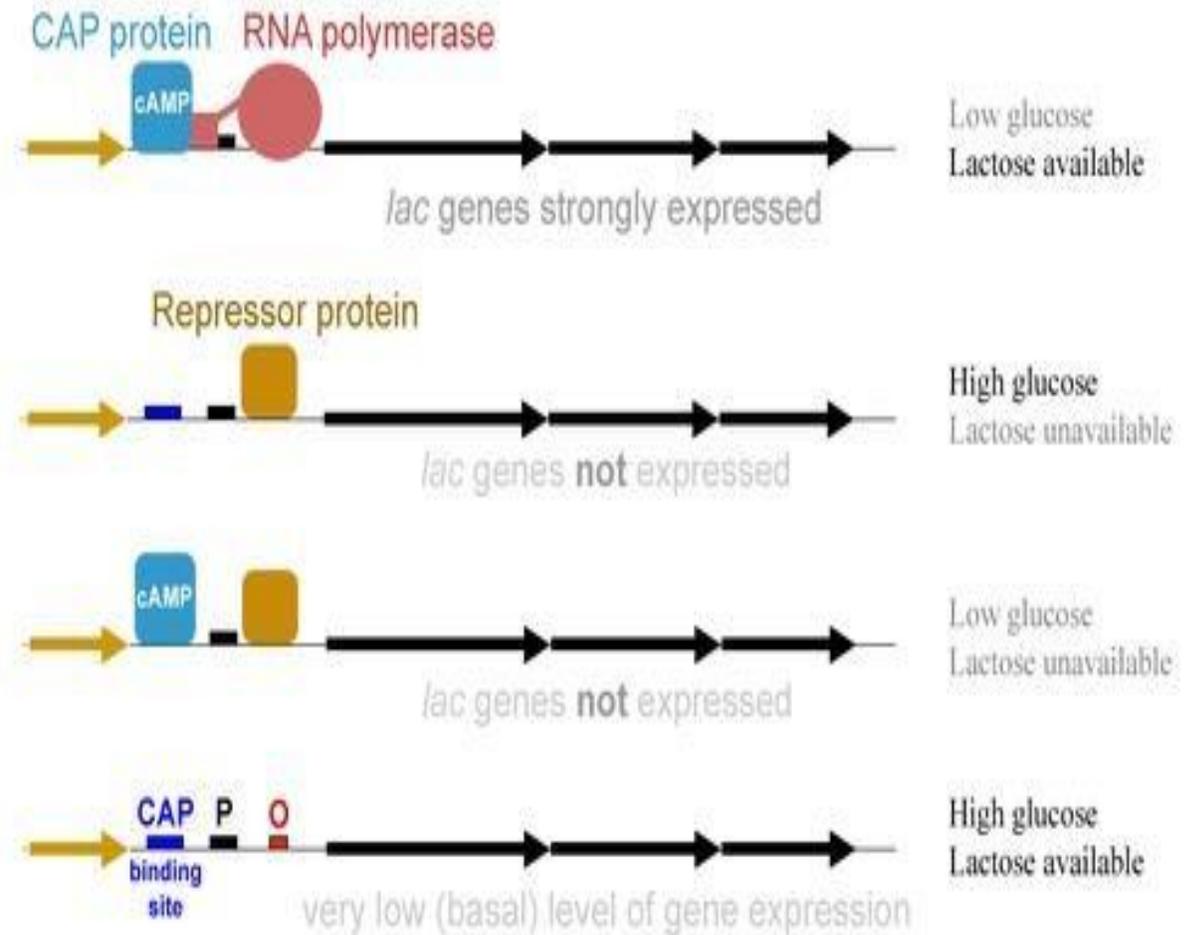


- Penentu pengikatan activator dan repressor pada promoter
- Molekul efektor contohnya : asam amino, gula, atau metabolit
- Molekul efektor yang mengaktifkan ekspresi gen : **induser**
- Molekul efektor yang bersifat menekan ekspresi suatu gen : **represor**

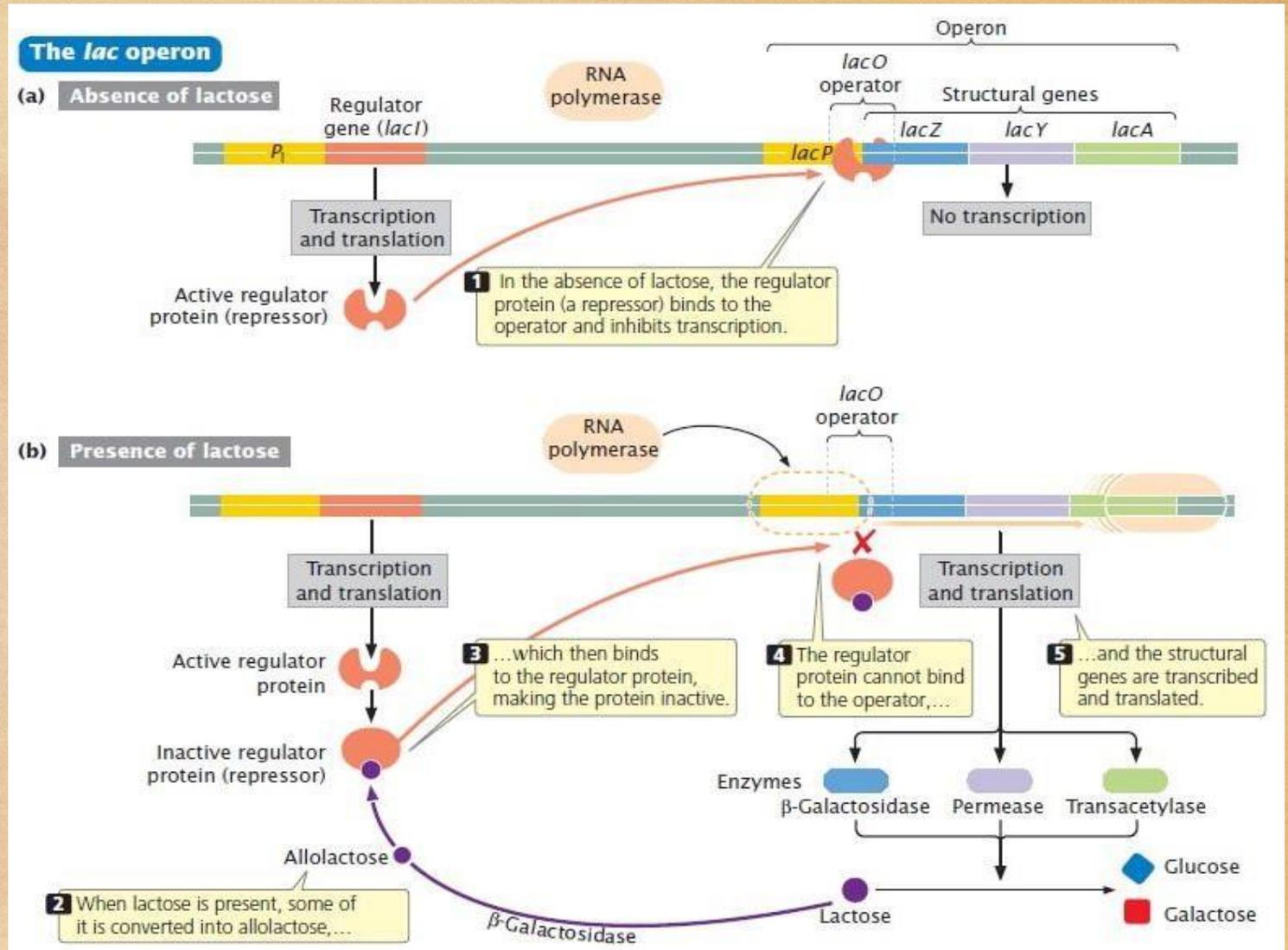
OPERON LAKTOSA (lac)



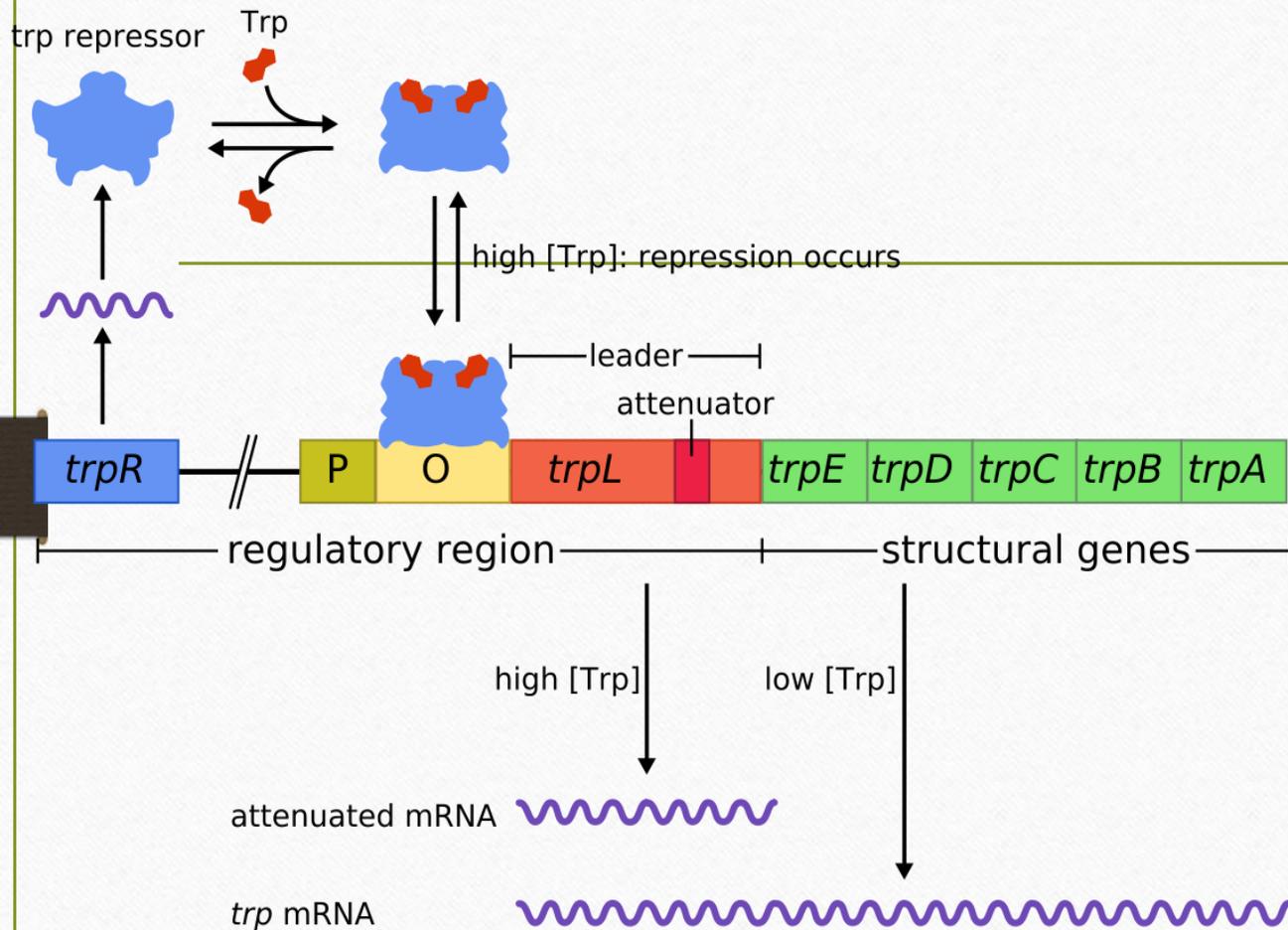
- Sistem pengendalian ekspresi gen dalam metabolisme laktosa yang mengkode enzim katabolik
- Gen ***lacZ***: mengkode enzim β - galactosidase \rightarrow memotong molekul laktosa menjadi glukosa dan galaktosa
- Gen ***lacY***: mengkode permease galaktosida \rightarrow pengangkutan laktosa dari luar ke dalam sel
- Gen ***lacA*** : transasetilase thiogalatosida \rightarrow enzim yang mentransfer gugus asetil dari asetil-KoA ke galaktosida, glukosida, dan laktosida.



OPERON LAKTOSA (lac)

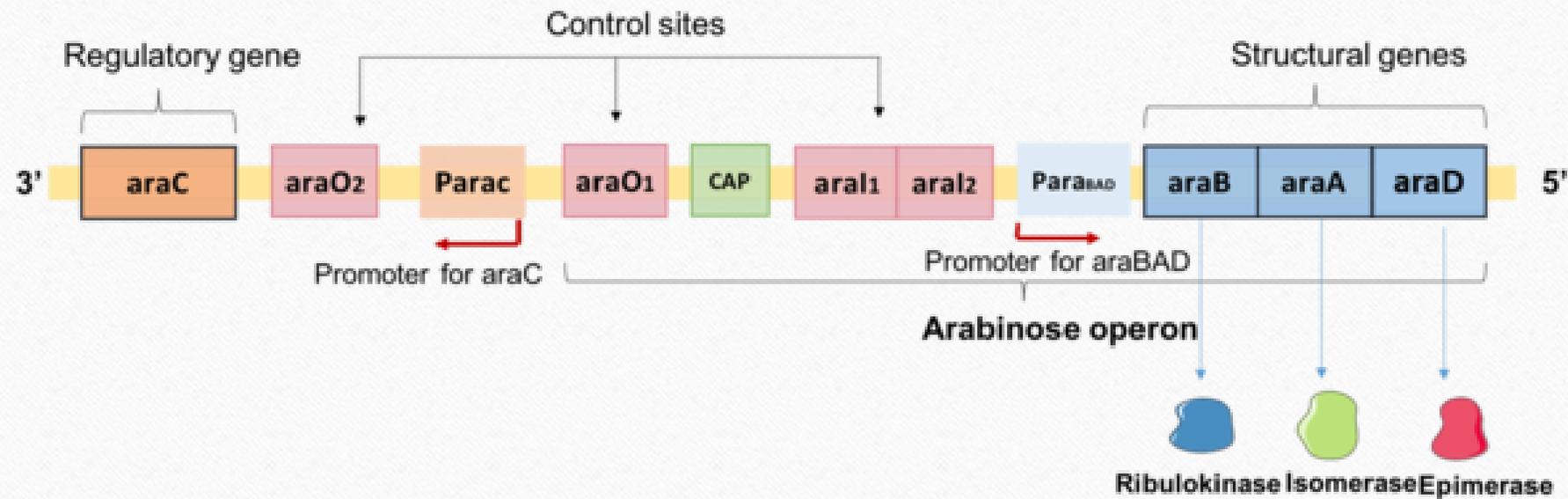


OPERON TRIPTOFAN (*trp*)



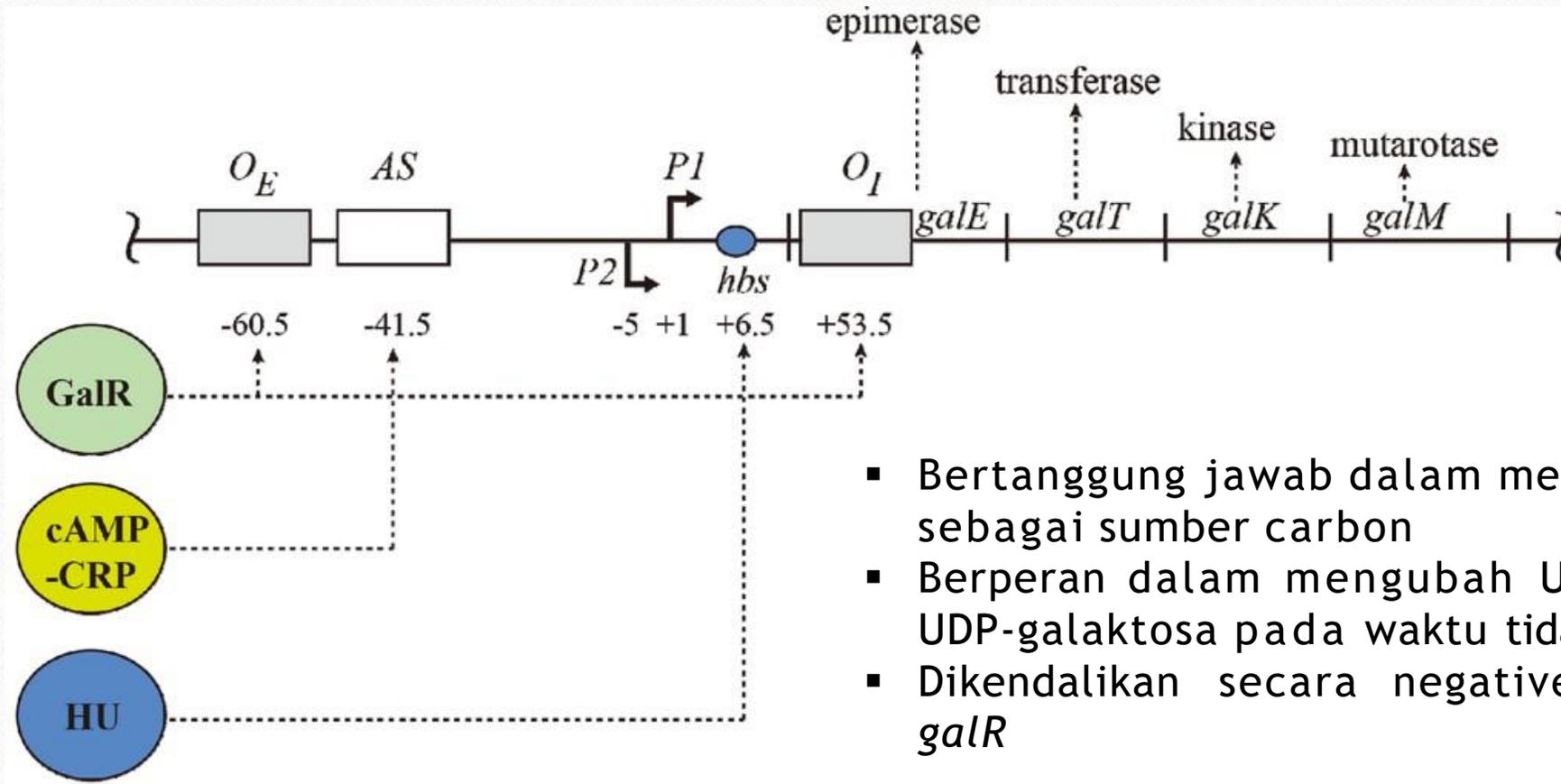
- Mengkode enzim anabolic untuk sintesis asam amino triptofan
- Dikendalikan secara negative oleh repressor dan proses pelemahan (*attenuation*)
- pada keadaan kurang triptofan, repressor tidak akan berikatan pada daerah promoter dan akan terjadi proses transkripsi. Sebaliknya, jika konsentrasi triptofan berlebih, maka repressor akan aktif dan menghambat proses transkripsi
- Proses tersebut tidak terlalu kuat, gen-gen structural triptofan masih dapat ditranskripsi. Meskipun terdapat triptofanL yang ditranskripsi namun proses tersebut akan segera diakhiri karena terdapat daerah attenuator yang mempunyai sekuens terminator

OPERON ara



- Untuk sintesis enzyme katabolisme L-arabinosa
- Dikendalikan secara negatif

OPERON gal



- Bertanggung jawab dalam metabolisme galaktosa sebagai sumber carbon
- Berperan dalam mengubah UDP-glukosa menjadi UDP-galaktosa pada waktu tidak ada galaktosa
- Dikendalikan secara negative oleh produk gen *galR*

PENGENDALIAN EKSPRESI GEN EUKARIOT

Sinyal pengendali ekspresi

- Meliputi molekul yang berperan dalam proses ppengendalian misalnya faktor transkripsi dan protein regulator

Aras pengendalian ekspresi

- Tahapan pada proses transkripsi, pasca transkripsi, translasi

Mekanisme pengendalian

- Interaksi antar sinyal pengendali ekspresi

PENGENDALIAN EKSPRESI GEN EUKARIOT

Gene on DNA



Primary transcript

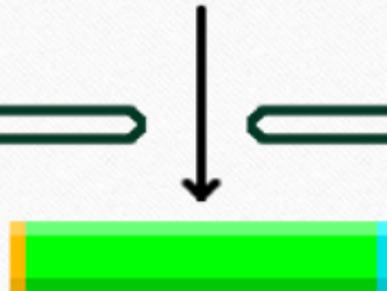


mRNA



NUCLEUS

CYTOSOL



Protein

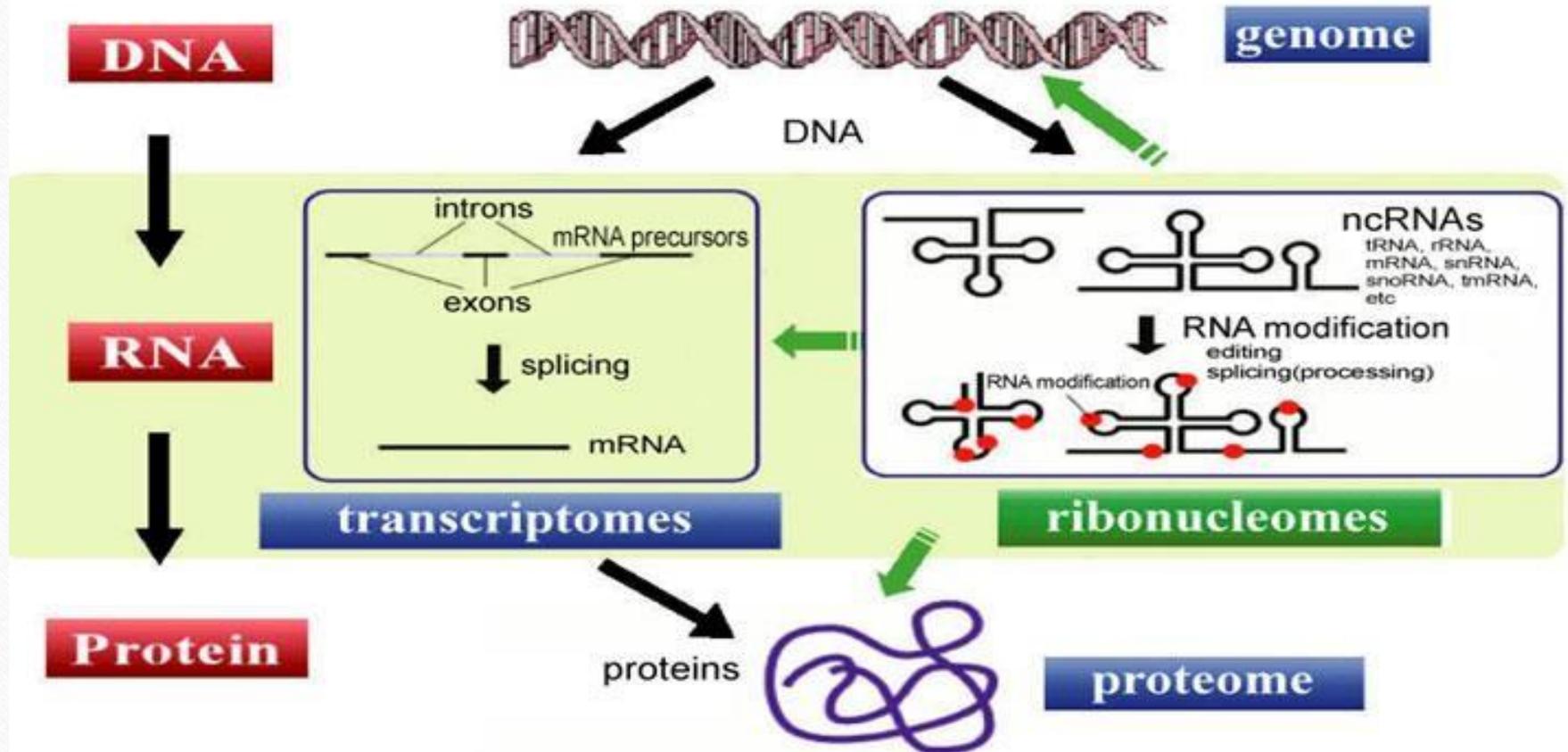


transcriptional control

RNA processing control

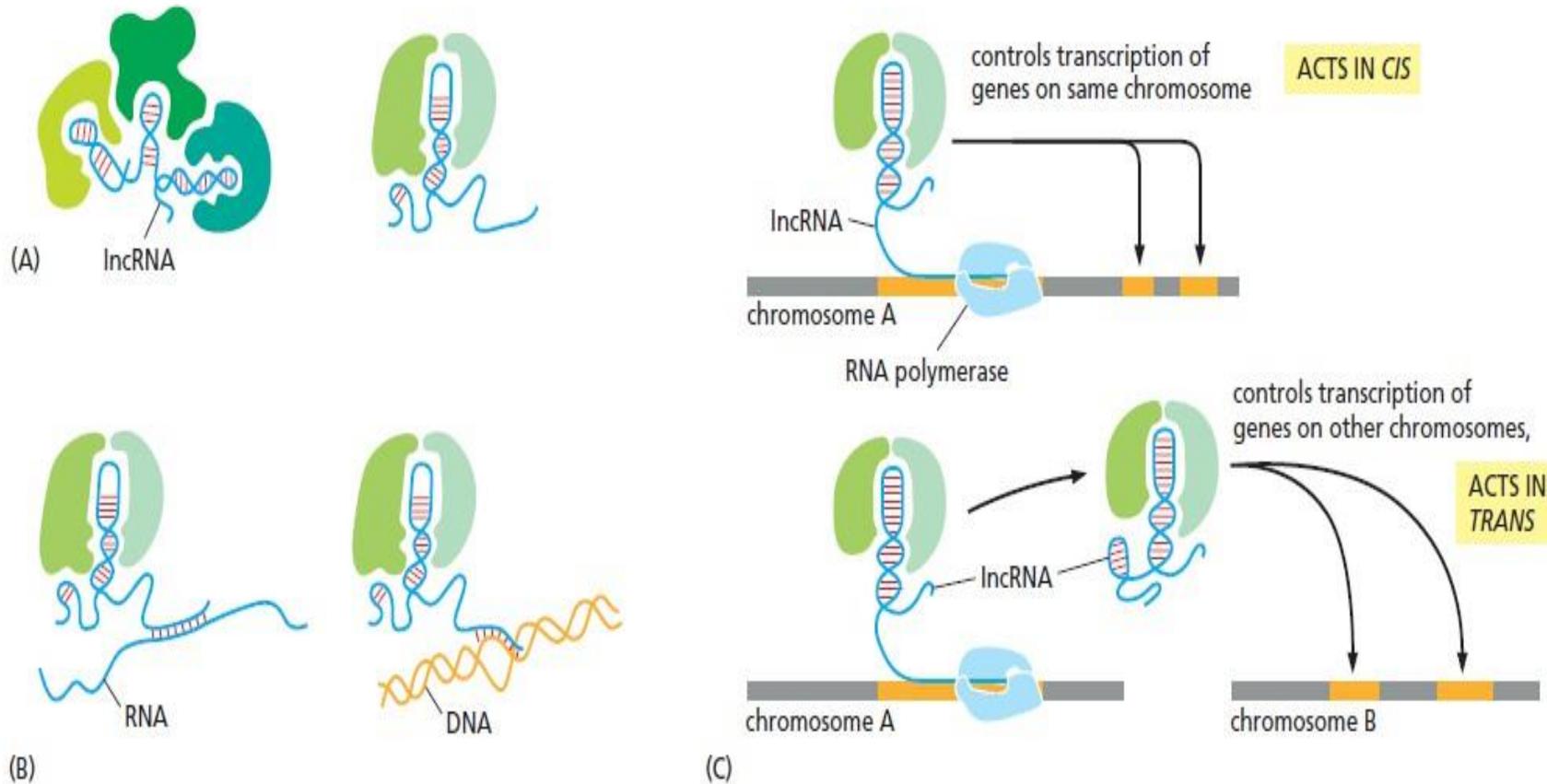
RNA transport control

translation control



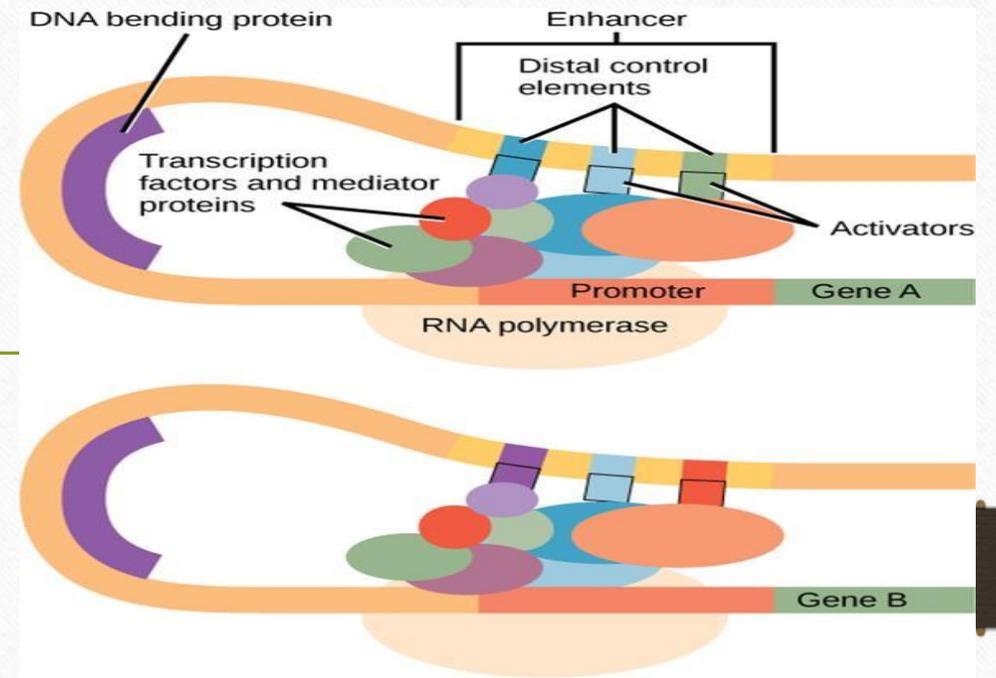
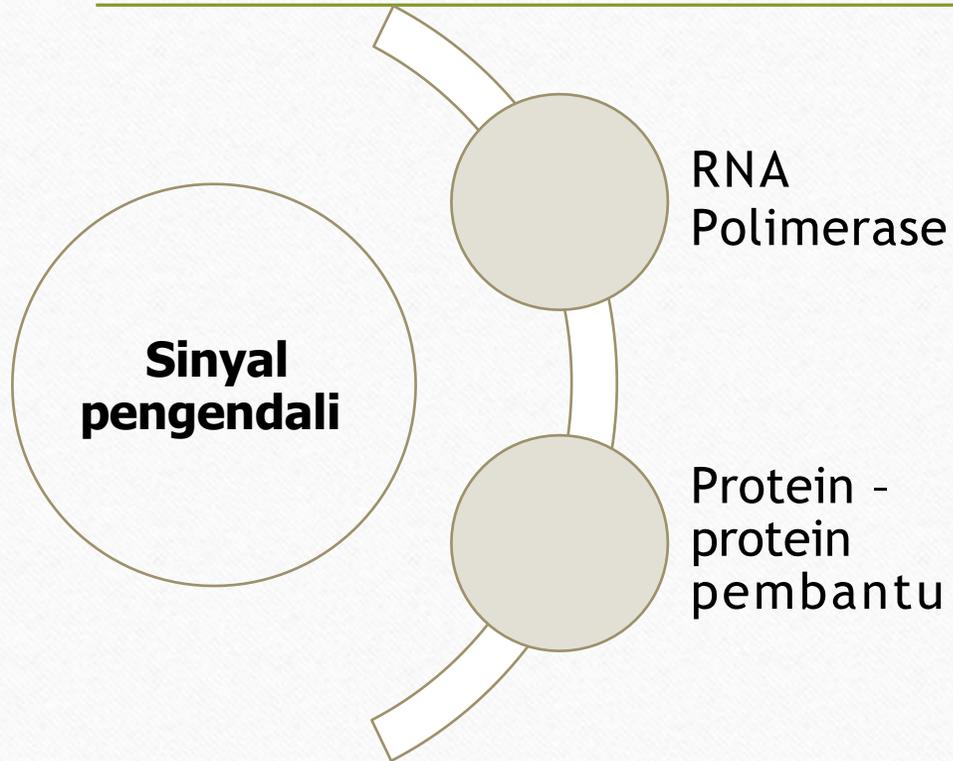
RNA bifungsional (bifRNA):
 memiliki fungsi pengaturan/non-pengkodean dan pengkodean.

Roles of long noncoding RNA (lncRNA)



mengendalikan aktivitas enzimatik protein, menonaktifkan regulator transkripsi, mempengaruhi pola *splicing*, dan memblokir terjemahan mRNA tertentu.

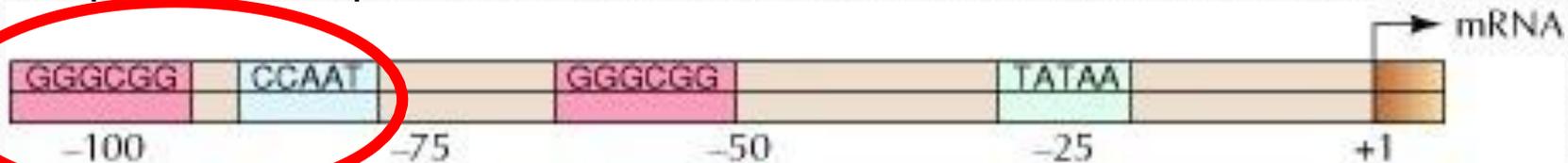
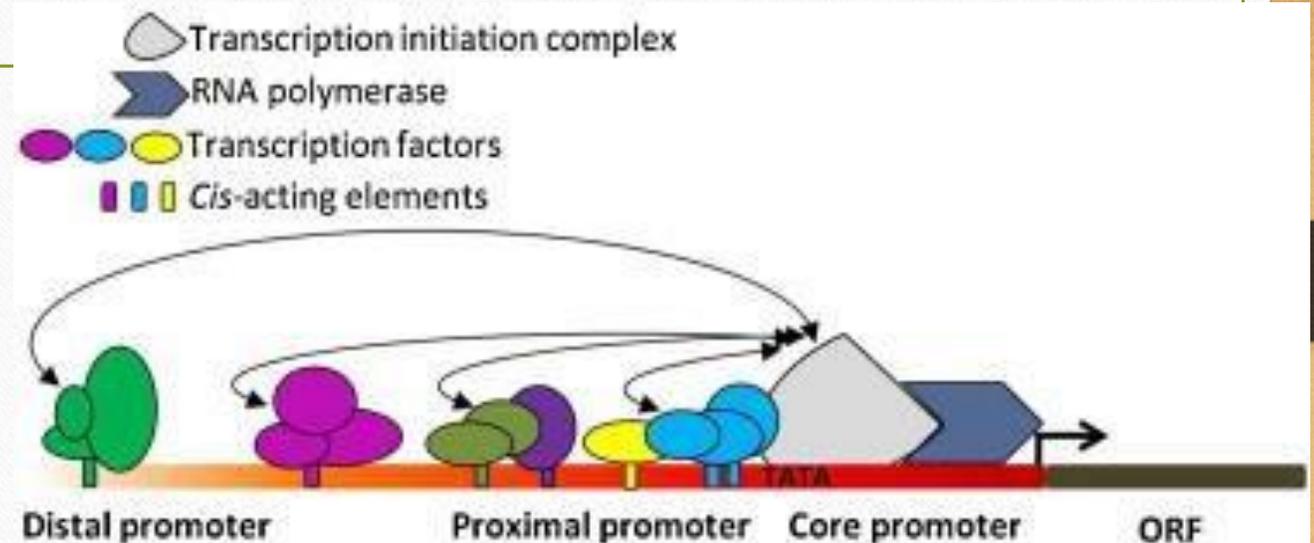
PENGENDALIAN EKSPRESI GEN EUKARIOT



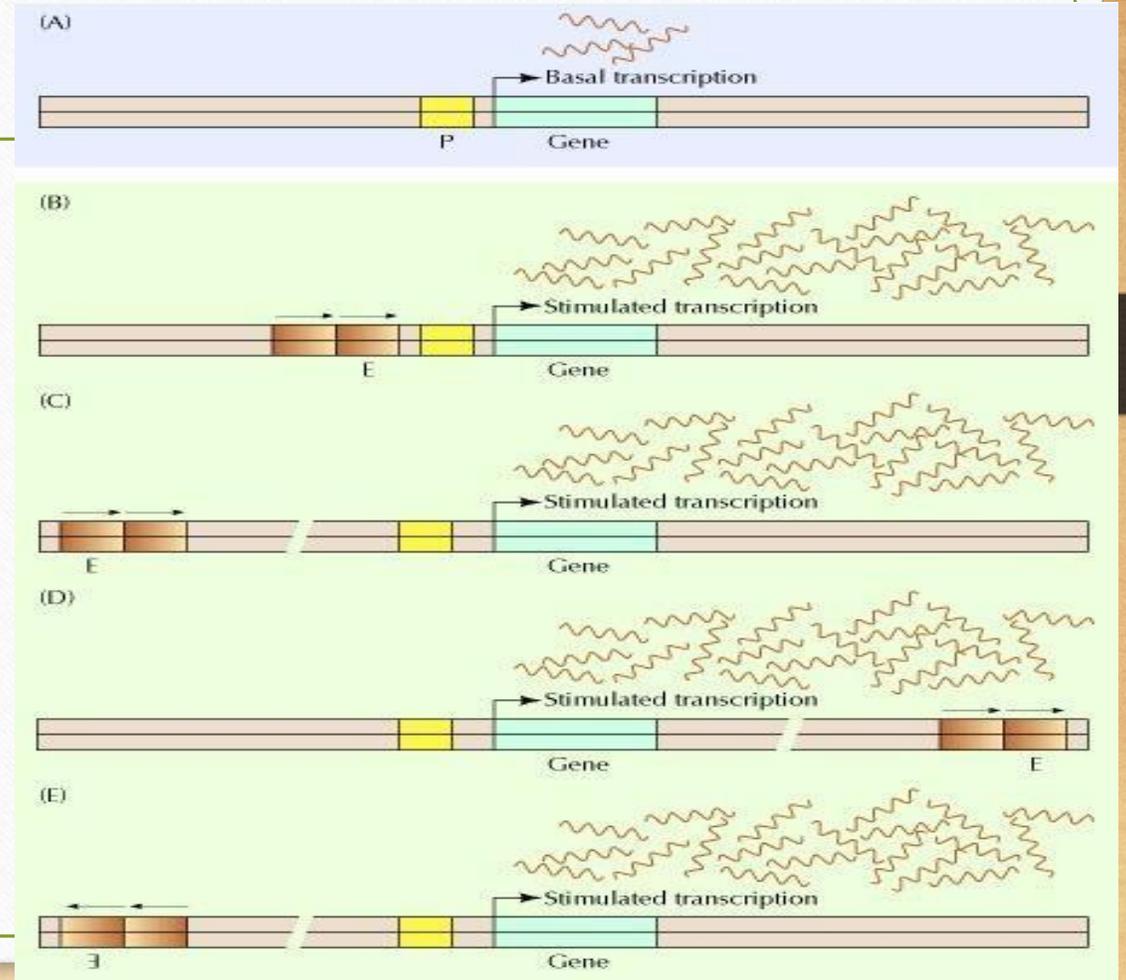
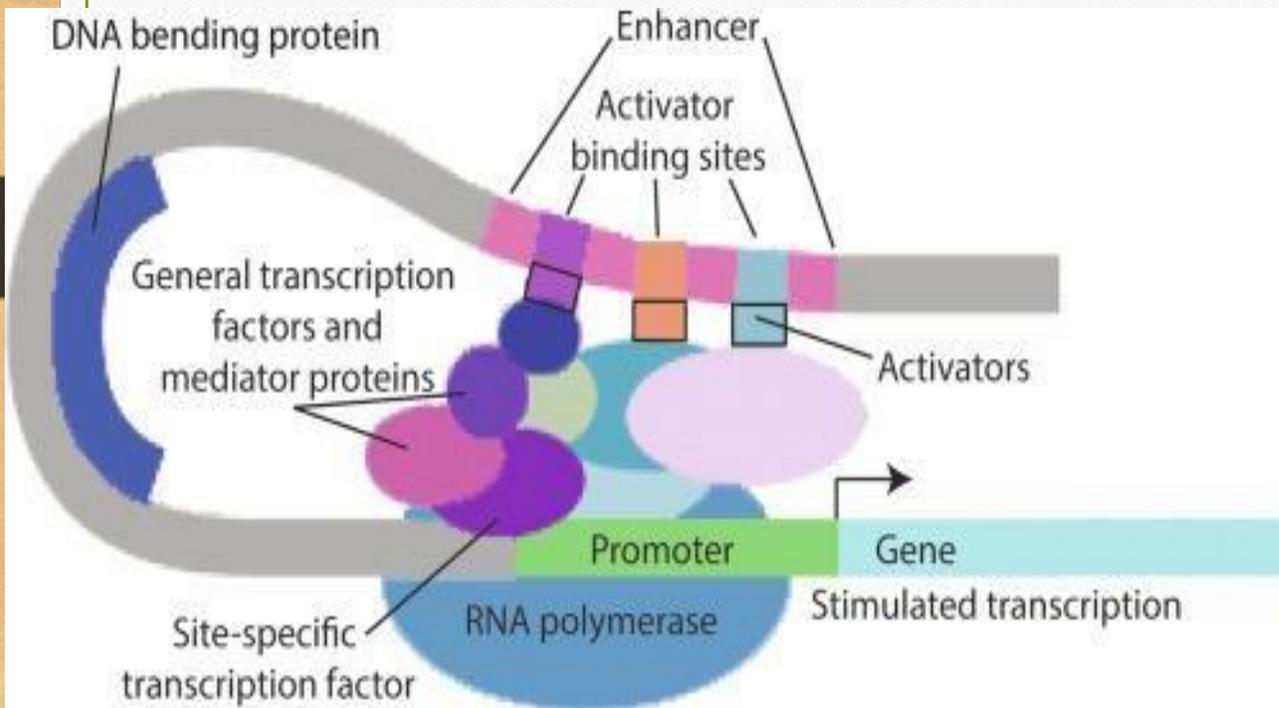
- TBP (Tata-box binding protein) dan Faktor transkripsi umum (TF I, TF II, TF III)
- Domain protein : domain pengikat DNA, domain yang mengaktifkan transkripsi, domain dimerisasi

cis-Acting Regulatory Sequences: Promoters and Enhancers

- *cis-acting sequences* → mengatur ekspresi gen eukariotik.
- sekuens yang terdapat dalam daerah 3' dan 5' yang tidak diterjemahkan, intron, atau daerah pengkodean RNA prekursor dan mRNA matang yang secara selektif dikenali oleh satu set komplementer dari satu atau lebih faktor trans-acting untuk mengatur ekspresi gen pascatranskripsi.

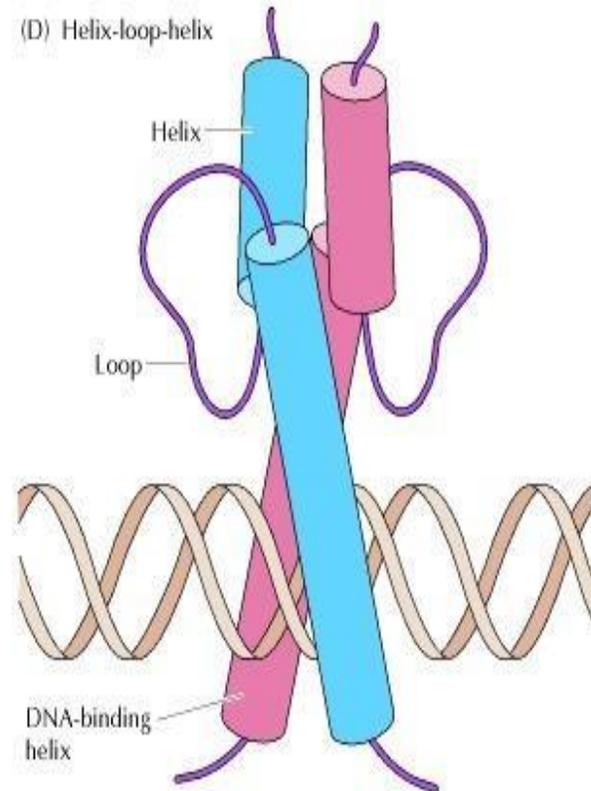
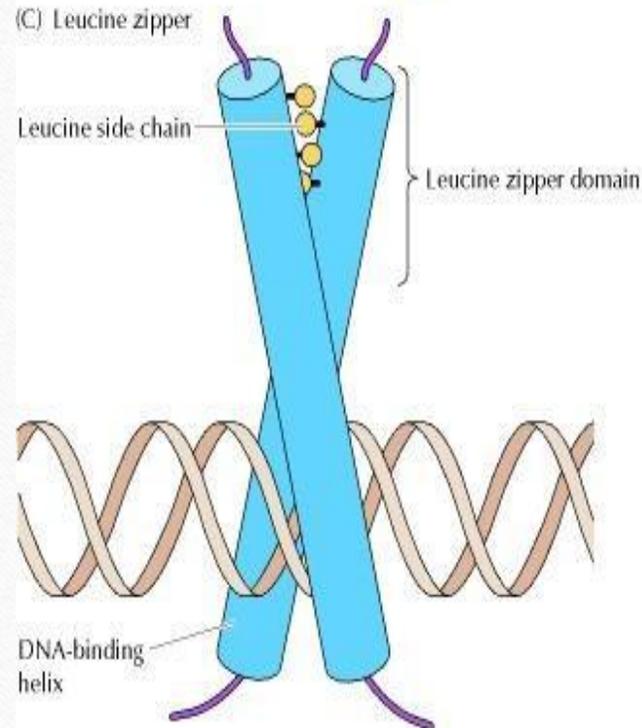
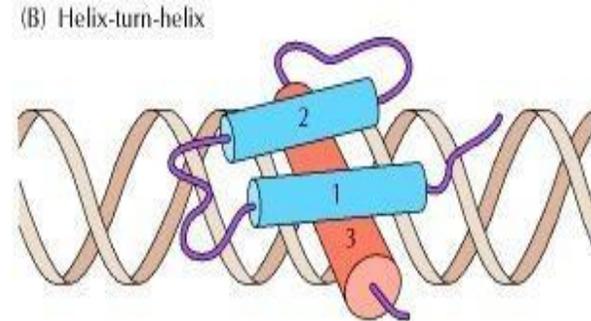
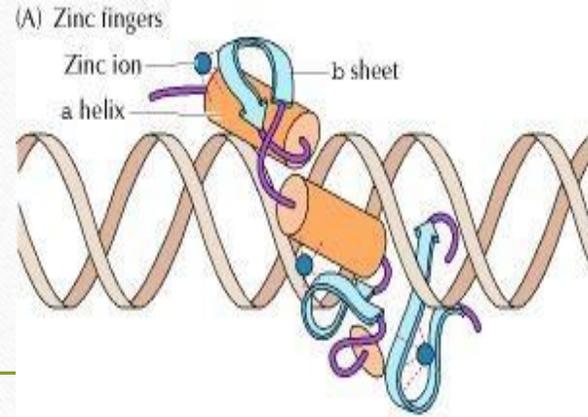


cis-Acting Regulatory Sequences: Promoters and Enhancers



DOMAIN DNA

- Wilayah fisik tertentu atau urutan asam amino dalam protein yang dikaitkan dengan fungsi tertentu atau segmen DNA yang sesuai.
- **Domain pengikatan DNA (DBD)** adalah domain protein terlipat secara independen yang mengandung setidaknya satu motif struktural yang mengenali DNA untai ganda atau tunggal. DBD dapat mengenali sekuens DNA spesifik (sekuens pengenalan) atau memiliki afinitas umum terhadap DNA

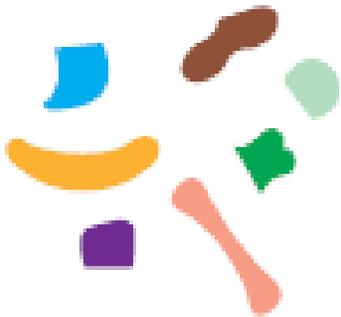


Transcription Factors and Their DNA-Binding Sites

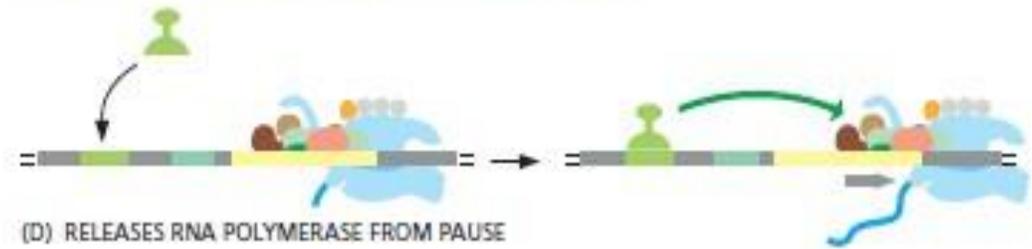
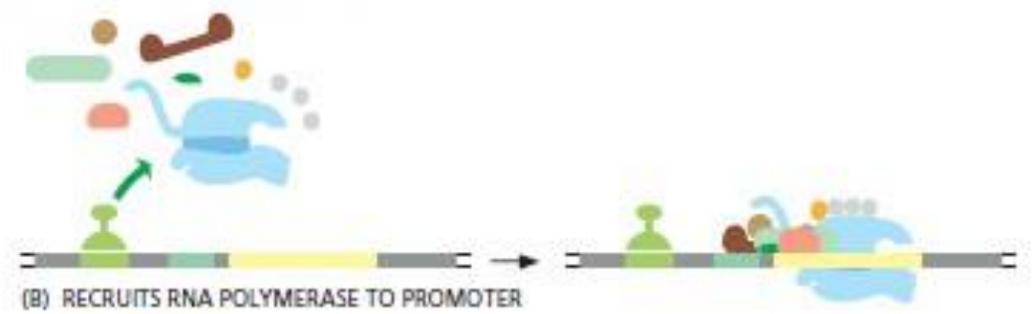
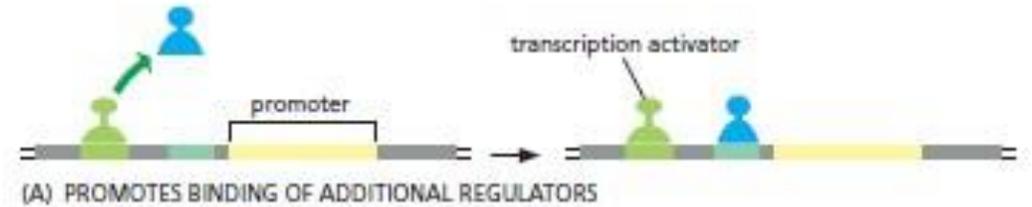
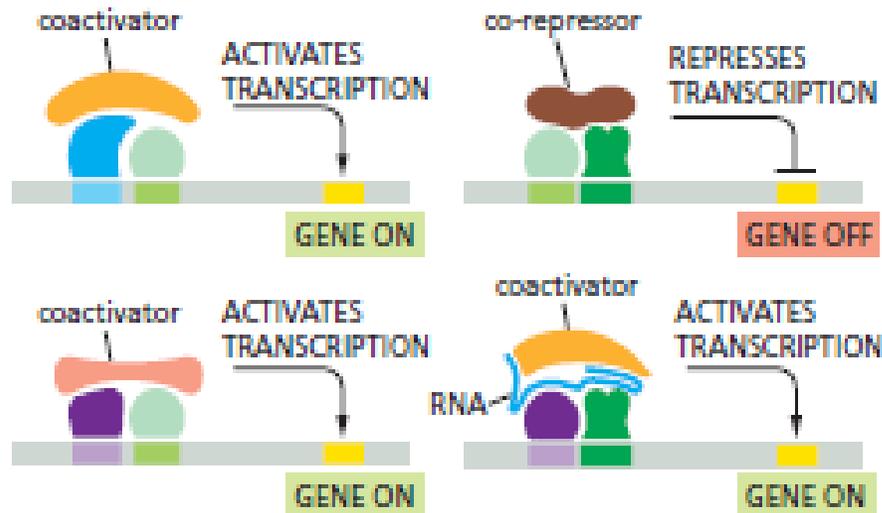
<u>Transcription factor</u>	Consensus binding site
Specificity protein 1 (Sp1)	GGGCGG
CCAAT/Enhancer binding protein (C/EBP)	CCAAT
Activator protein 1 (AP1)	TGACTCA
Octamer binding <u>proteins</u> (OCT-1 and OCT-2)	ATGCAAAT
E-box binding <u>proteins</u> (E12, E47, E2-2)	CANNTG ^a

Structure and Function of Transcriptional Activators

(A) IN SOLUTION



(B) ON DNA



Aktivator transkripsi terdiri dari dua domain independen. Domain pengikatan DNA mengenali urutan DNA tertentu, dan domain aktivasi berinteraksi dengan komponen lain dari mesin transkripsi.

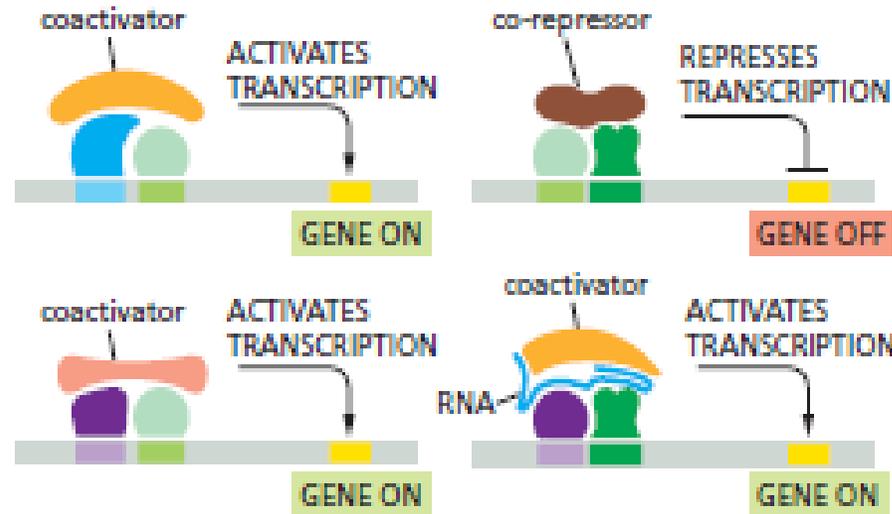
- Aktivator umumnya protein modular yang mengandung domain pengikatan DNA tunggal dan satu atau beberapa domain aktivasi; domain yang berbeda sering dihubungkan melalui daerah polipeptida fleksibel. Ini memungkinkan domain aktivasi dalam aktivator yang berbeda untuk berinteraksi bahkan ketika domain pengikatan DNA mereka terikat ke situs yang dipisahkan oleh puluhan pasangan basa.

Structure and Function of Transcriptional repressor

(A) IN SOLUTION

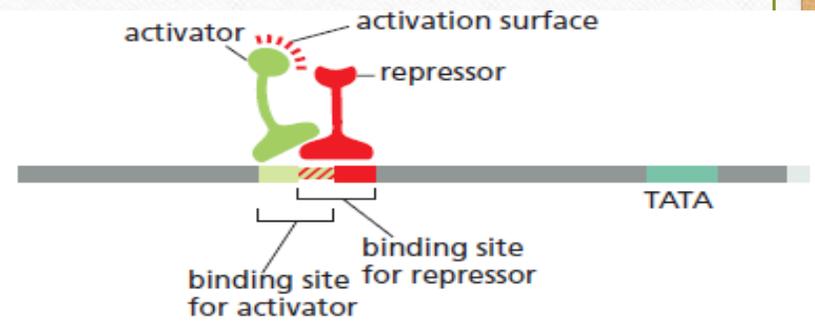


(B) ON DNA



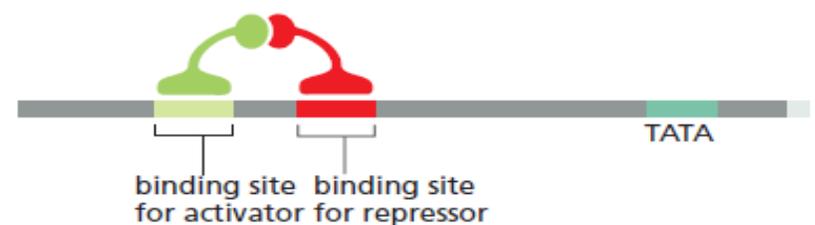
(A)

competitive DNA binding



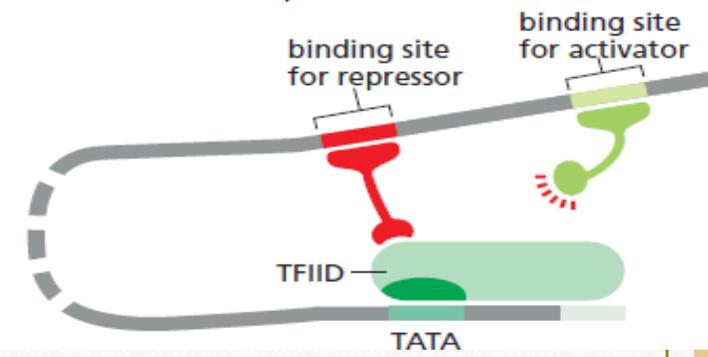
(B)

masking the activation surface



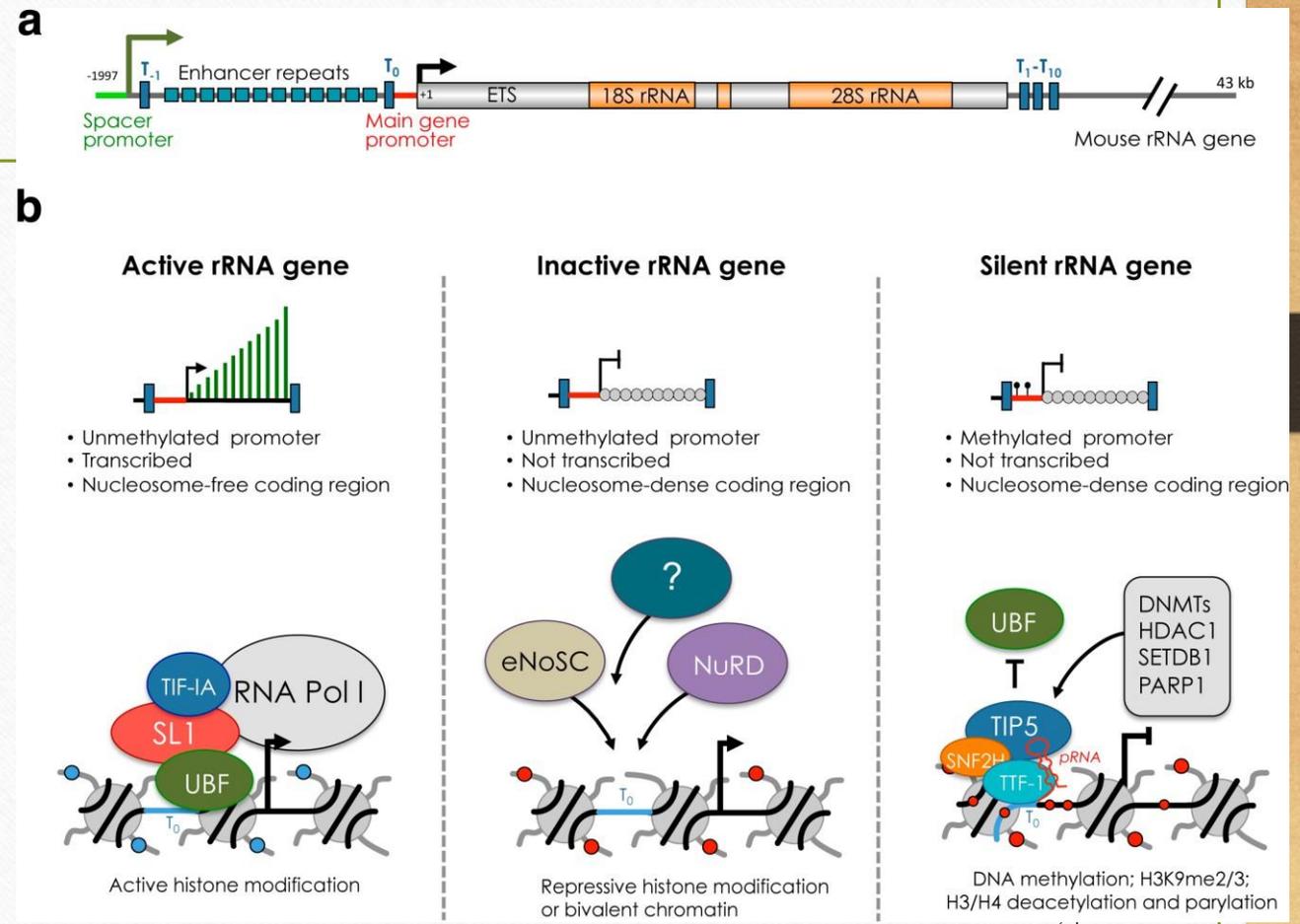
(C)

direct interaction with the general transcription factors



Pengendalian ekspresi Gen Kelas 1

- Laju sintesis berkaitan dengan pertumbuhan dan perkembangan sel
- Contoh sintesis rRNA pada sel liver 10x lebih besar daripada sel normal
- Faktor yang mempengaruhi laju sintesis :
 1. Jumlah enzim RNA polymerase
 2. Aras fosforilasi RNA polymerase
 3. Jumlah dan aktivitas faktor transkripsi



Pengendalian ekspresi Gen Kelas II dan III

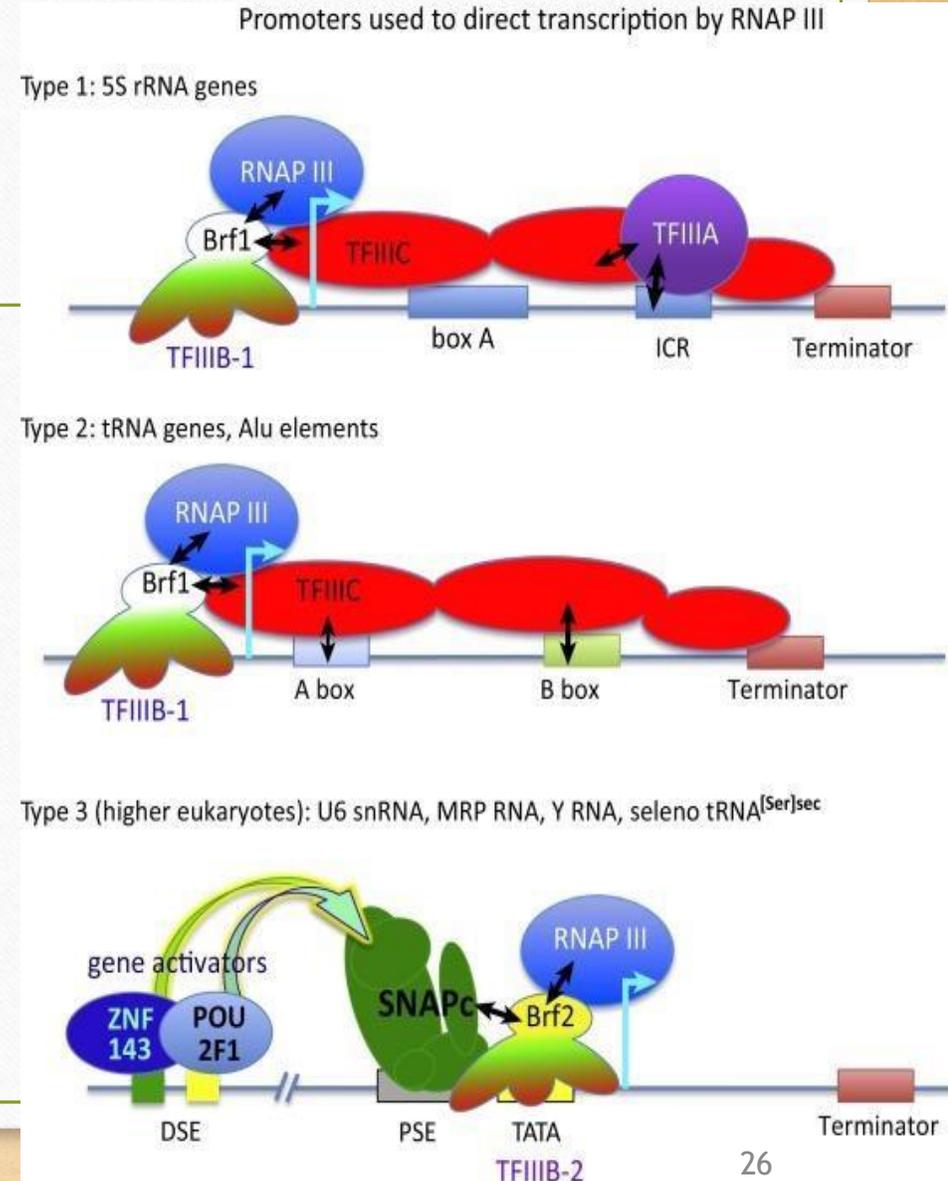
Gen kelas II

Terjadi pada beberapa aras

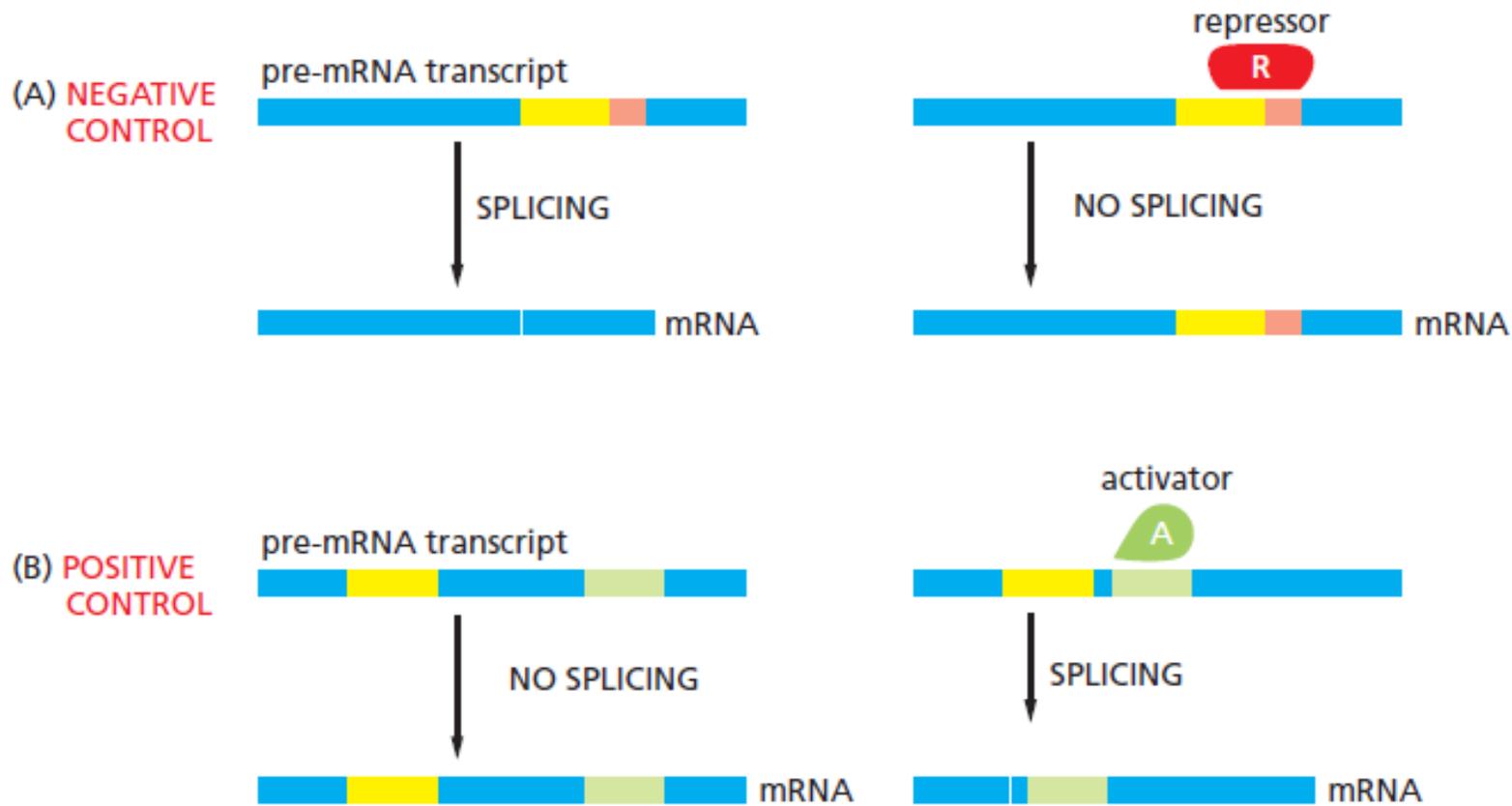
1. Aras metabolisme mRNA → saat transkripsi mRNA, penggunaan transkrip primer
2. Aras translasi mRNA menjadi polipeptida
3. Aras pasca translasi

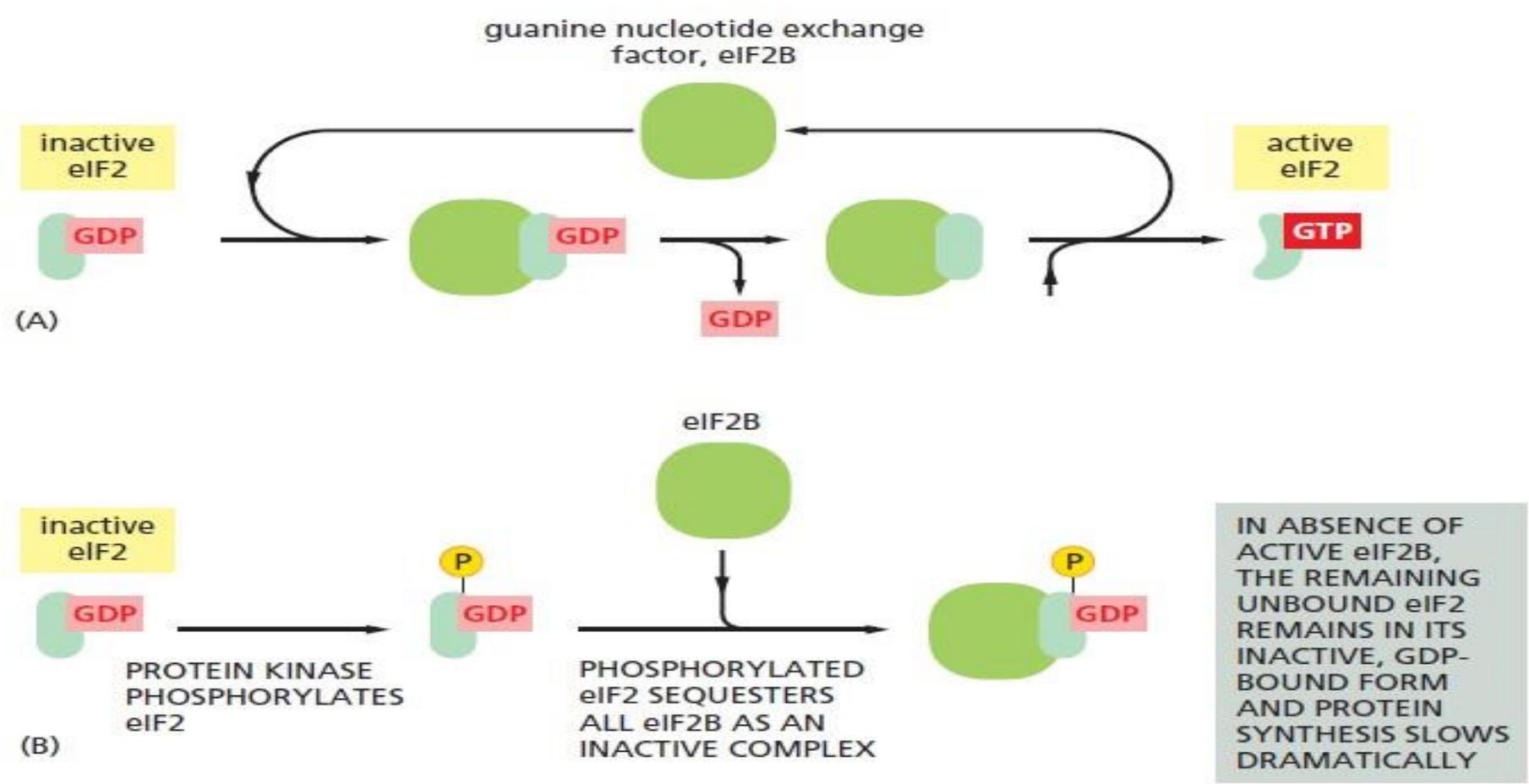
Gen kelas III

- Gen yang mengkode sintesis tRNA dan 5S rRNA (somatic dan oosit)
- Model pengendalian : regulasi sintesis 5S RNA selama proses oogenesis dan embryogenesis. Mencapai aras maksimal dalam oosit yang masih muda dan menurun sejalan dengan semakin tua oosit
- Pengendalian ekspresi gen 5S rRNA dipengaruhi oleh faktor transkripsi TFIIIA → punya daya ikat yang besar terhadap gen 5S somatic membentuk partikel berukuran 7S



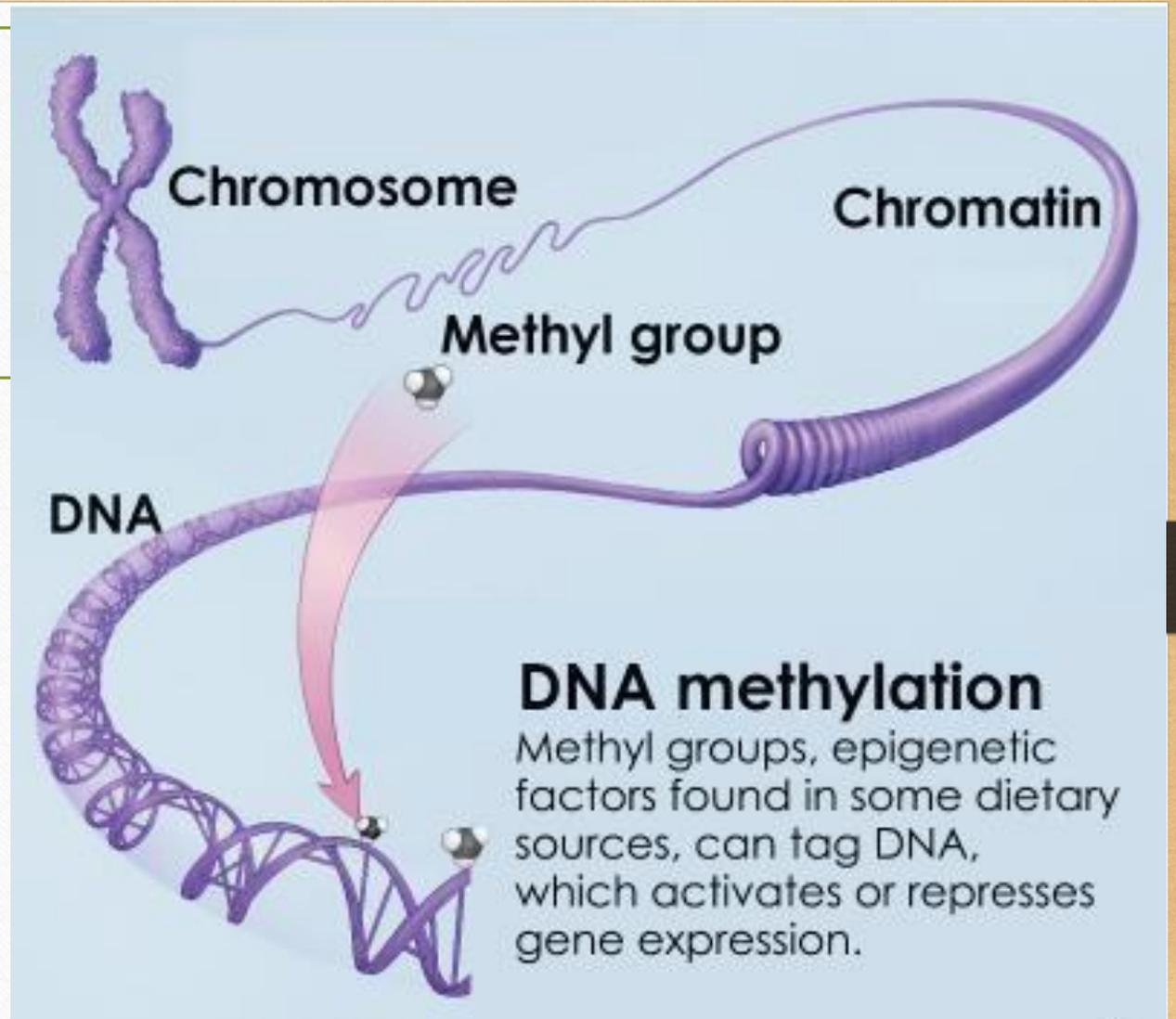
NEGATIVE AND POSITIVE CONTROL OF ALTERNATIVE RNA SPLICING





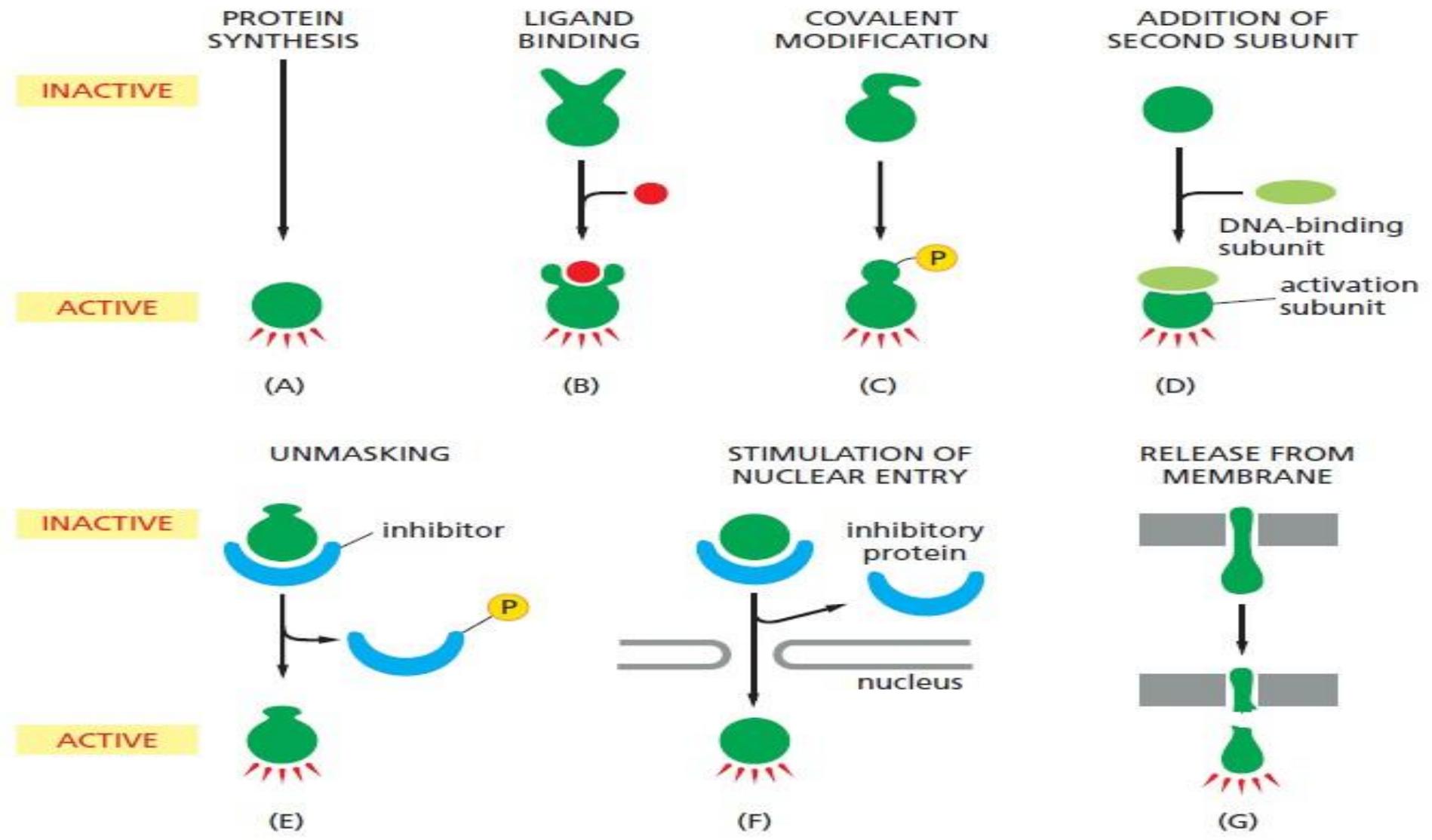
DNA Methylation

- Apa peran metilasi DNA?
- **Metilasi DNA** merupakan proses biologis penambahan gugus metil kedalam susunan molekul **DNA**. Proses **metilasi** ini, dapat mengubah aktivitas suatu segmen **DNA** tanpa merubah sekuen dari **DNA** tersebut



REGULASI FAKTOR TRANSKRIPSI

1. **Regulasi sementara**
gen c-fos, c-jun, c-myc dan egr-1 merupakan gen yang mengkode faktor transkripsi secara temporal oleh jalur transduksi sinyal → pengikatan mitogen atau faktor diferensiasi, impuls saraf, dan kerusakan fisik
2. **Regulasi dengan pengikatan ligan**
contoh : Anggota reseptor hormon steroid.
3. **Regulasi dengan sequestration (pengasingan) protein NFκ-B**
4. **Regulasi modifikasi pasca-translasi**
faktor transkripsi CREB melalui proses fosforilasi
5. **Regulasi dengan pengeblokan empat ikatan pada DNA**
faktor transkripsi NF-E yang melekat pada kotak CCAAT
6. **Regulasi dengan pengeblokan aktivitas penghambatan faktor transkripsi Gal4 oleh protein Gal80**
7. **Regulasi dengan mekanisme silencing silencer → pengendali negative**

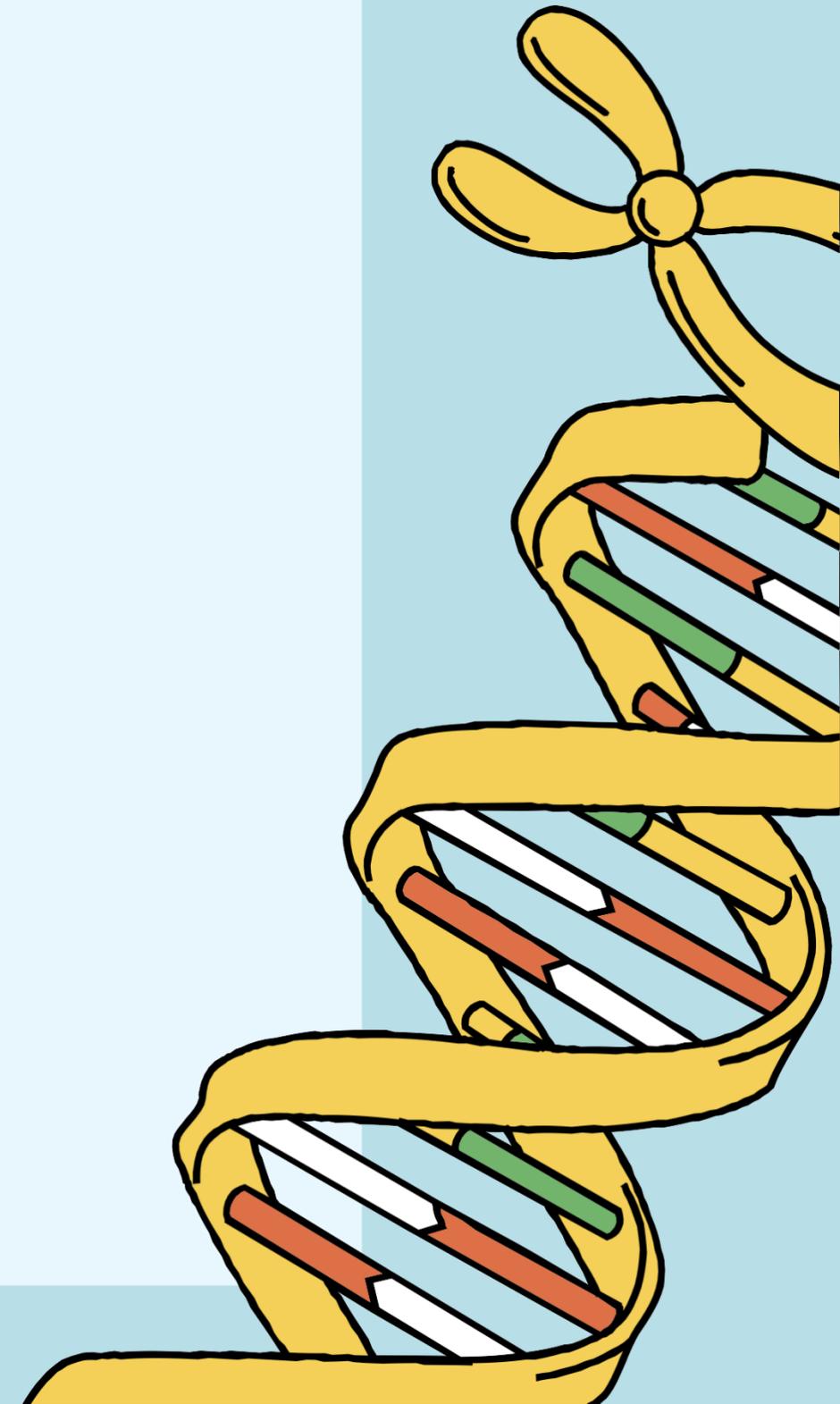
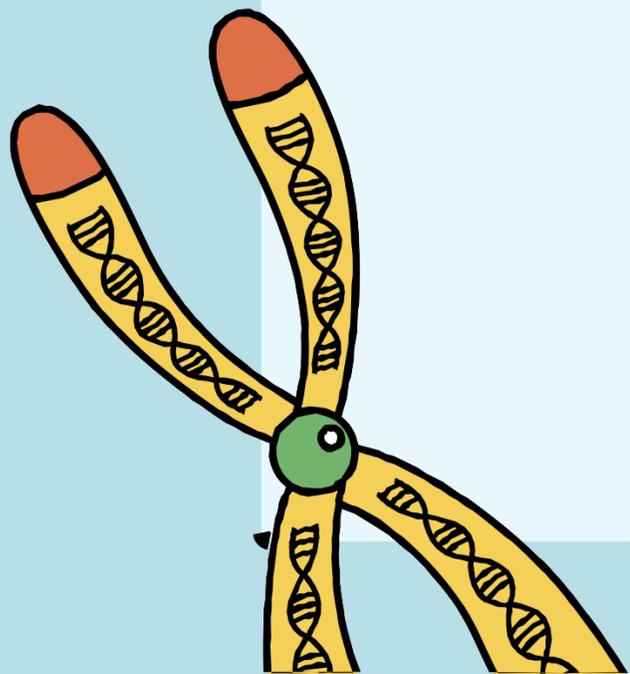


Biologi Sel Molekuler

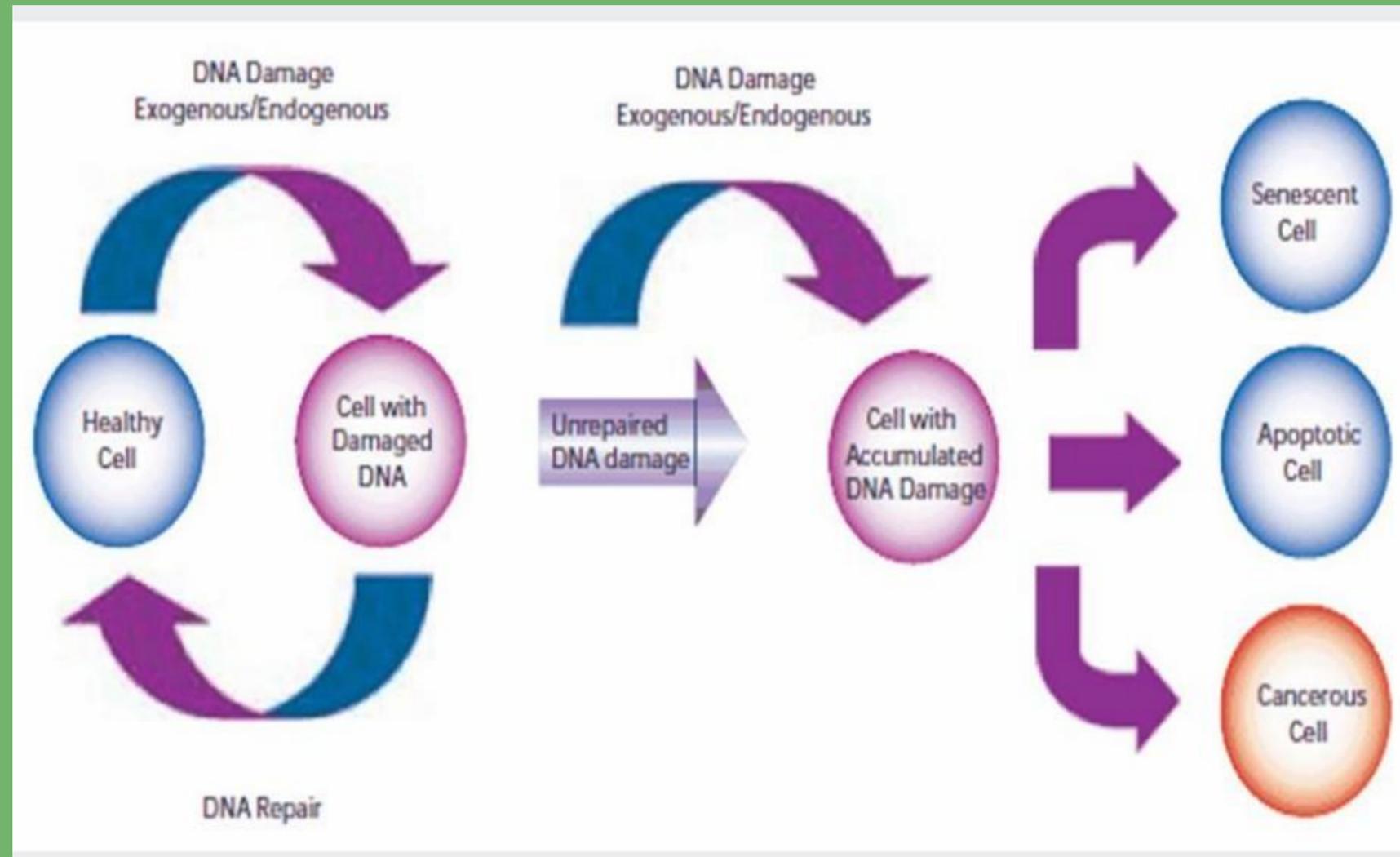
Mutasi GEN

apt. Desi Novita Revianawati., M.Farm

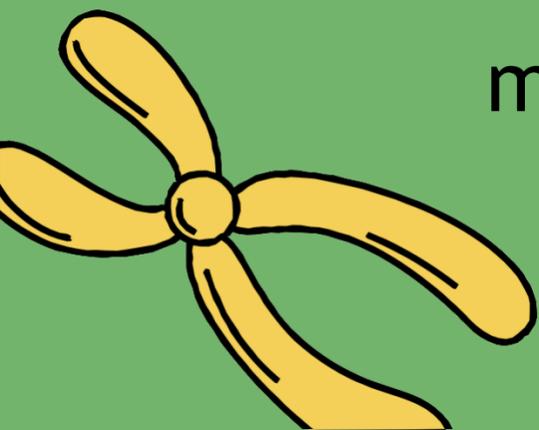
Pertemuan 14



DNA DAMAGE & DNA REPAIR



Kerusakan DNA tidak sama dengan mutasi meskipun dapat menyebabkan mutasi



DNA DAMAGE & DNA REPAIR

Kerusakan DNA (DNA Damage): perubahan struktur kovalen DNA (dari basa atau tulang punggung fosfodiester).

Kerusakan DNA dapat mengakibatkan Mutasi atau Kematian Sel (apoptosis atau nekrotik) .

- Depurinasi dan deaminasi**
- Alkilasi**
- Dimer pirimidin**
- Salah pasangan**
- Kesalahan proses replikasi**

DNA REPAIR

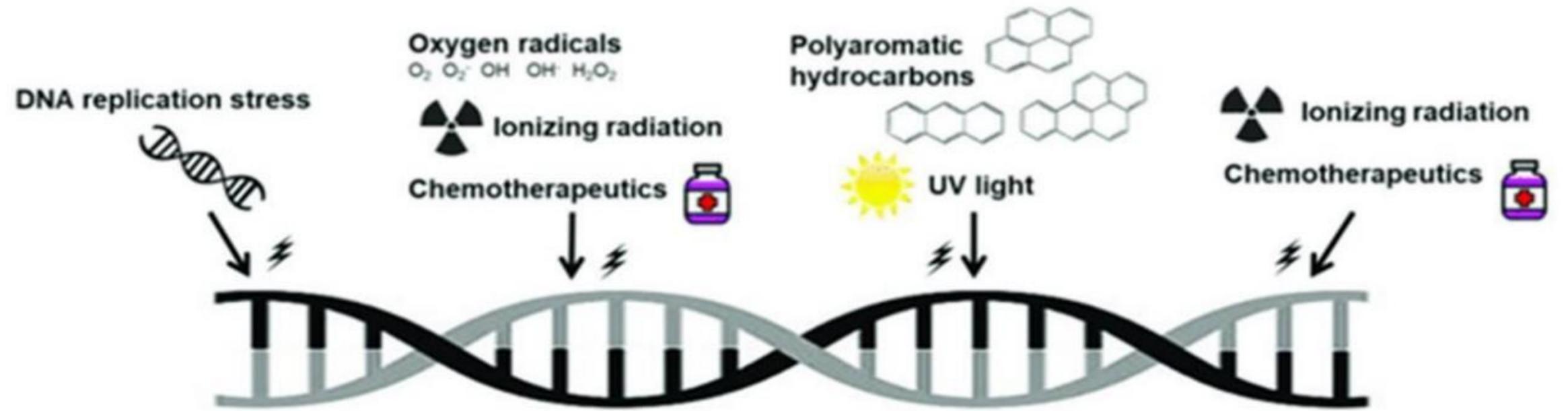
DNA repair: sebagian besar perubahan spontan dalam DNA bersifat sementara karena segera dikoreksi oleh serangkaian proses yang secara kolektif .

Struktur heliks ganda DNA secara ideal cocok untuk perbaikan karena membawa dua salinan terpisah dari semua informasi genetik—satu di masing-masing dari dua untaiannya

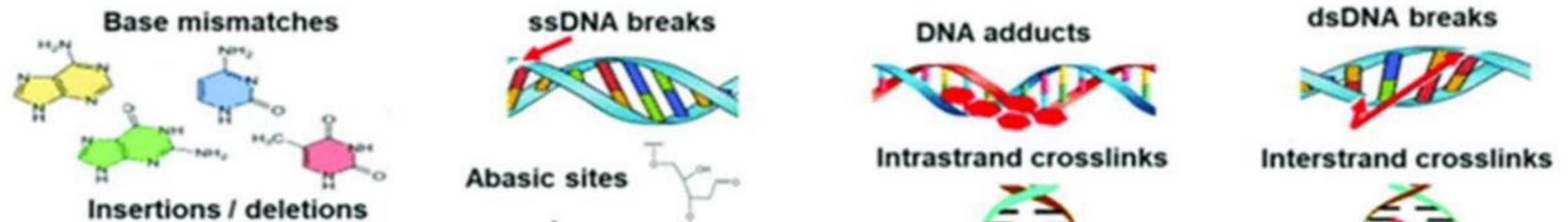
Ketika satu untai rusak, untai komplementer mempertahankan salinan utuh dari informasi yang sama, dan salinan ini umumnya digunakan untuk mengembalikan urutan nukleotida yang benar ke untai yang rusak.

DNA Damage and DNA Repair

DNA damaging agents



Types of DNA damage



DNA repair mechanisms

Mismatch repair

Base-excision repair

Nucleotide-excision repair

dsDNA break repair

Transcription-coupled- /
global genome repair

Homologous recombination /
non-homologous end-joining



MUTASI

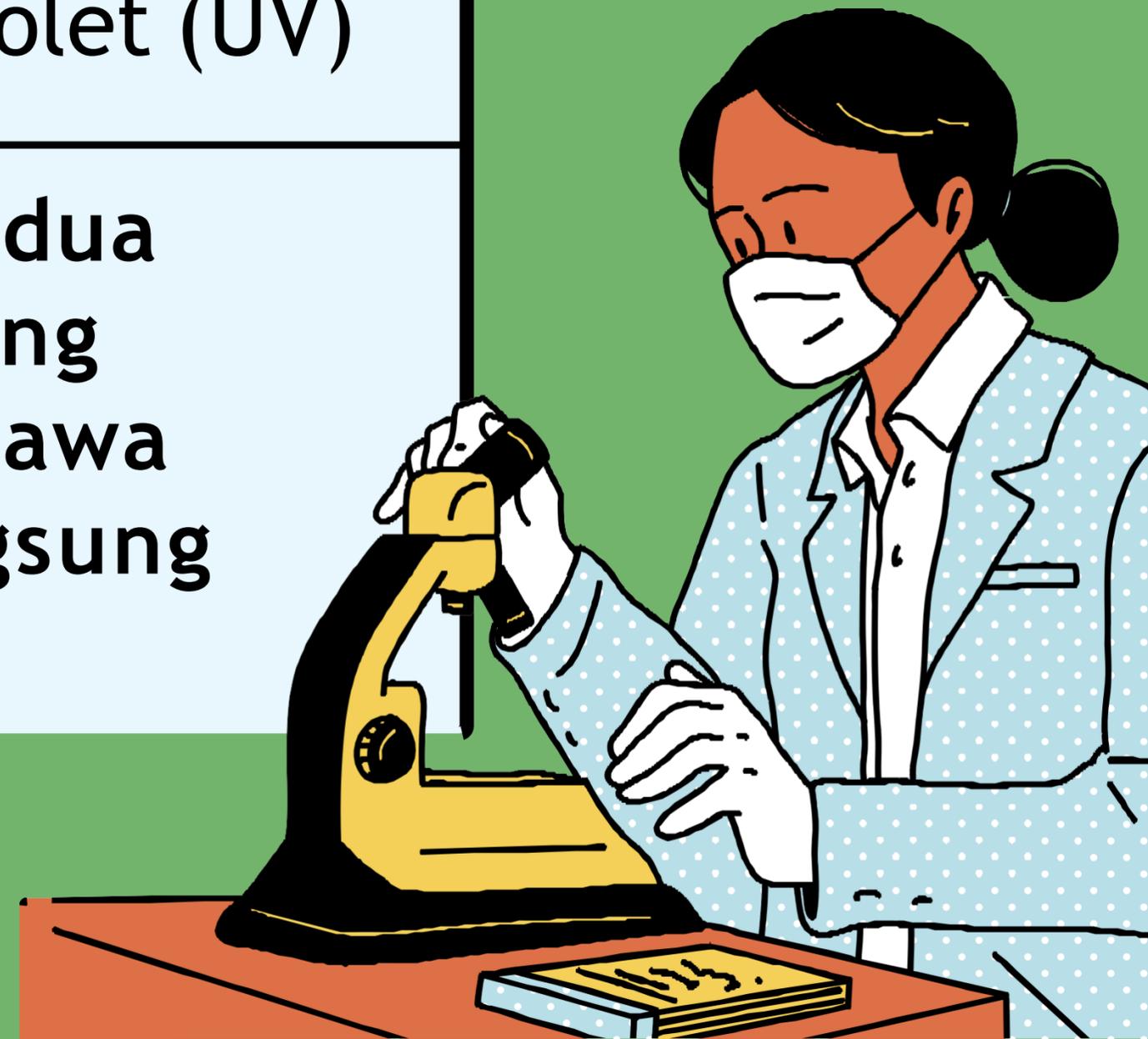
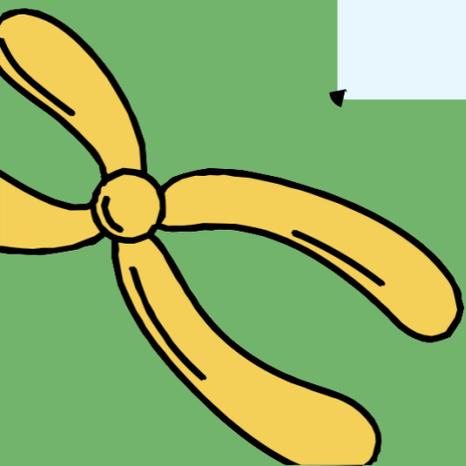
- **Mutasi** adalah perubahan urutan DNA. Mutasi dapat terjadi akibat kesalahan penyalinan DNA yang dilakukan selama pembelahan sel, paparan radiasi pengion, paparan bahan kimia yang disebut mutagen, atau infeksi virus
- **Mutasi** adalah perubahan yang terjadi pada bahan genetic (DNA maupun RNA), baik pada taraf urutan gen (disebut mutase titik) maupun pada taraf kromosom.
- Mutasi pada tingkat kromosomal biasanya disebut **aberasi**. Mutasi pada gen dapat mengarah pada **munculnya alel baru** dan menjadi dasar bagi kalangan pendukung evolusi mengenai munculnya variasi-variasi baru pada spesies.

PENYEBAB MUTASI

Spontan

Induksi paparan sinar ultra violet (UV)

Induksi senyawa kimia dengan dua kategori: senyawa yang langsung berefek sbg mutagen dan senyawa yang efeknya tidak secara langsung



Mutagen kimiawi penyebab kanker

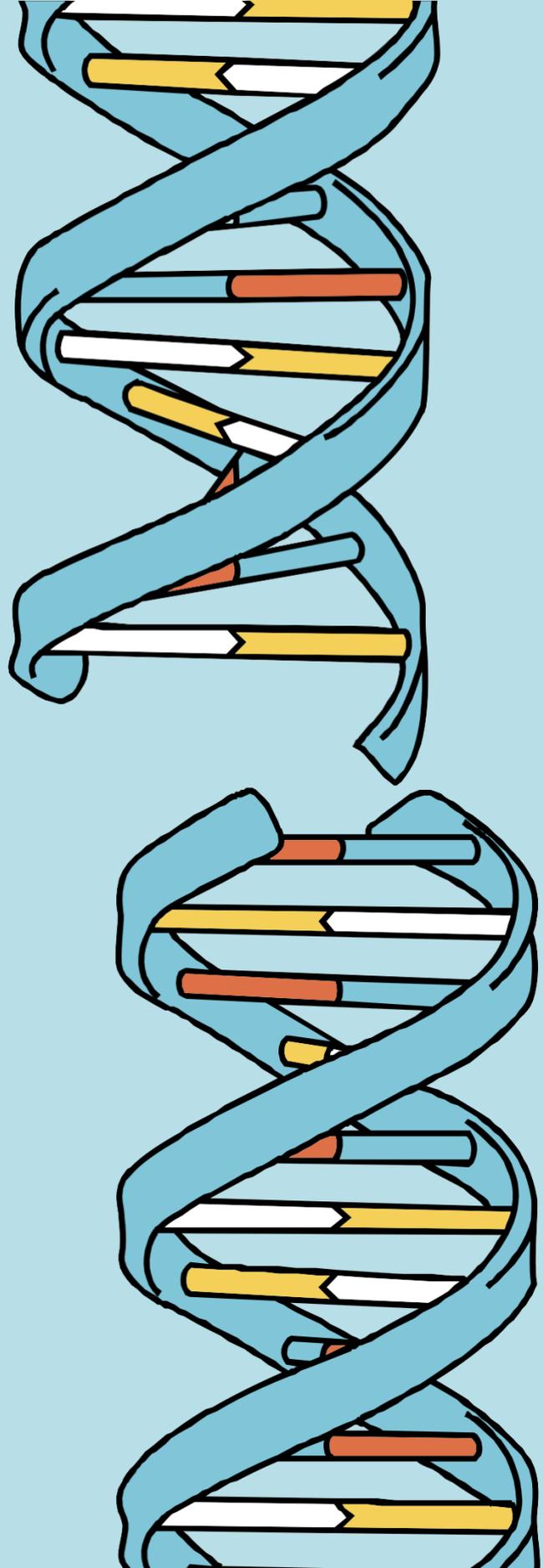
Mutagen
Efek langsung

- Propiolakton
- Etil metana sulfat (EMS)
- Dimetil sulfat (DMS)
- Mustard nitrogen
- Metil nitrourea (MNU)

Mutagen
Efek tidak langsung

- Benzo (a) piren
- Dibenz (a,h) antr asen
- 2 - naftilamin
- Dimetilnitrosamin
- Vinil klorida
- Safrol
- 2 - asetilaminofluoren
- Alfatoksin B1





JENIS MUTASI

- Mutasi gen
- Mutasi Kromosom

MUTASI GEN

Point mutation
• **Silent, missense,
nonsense**

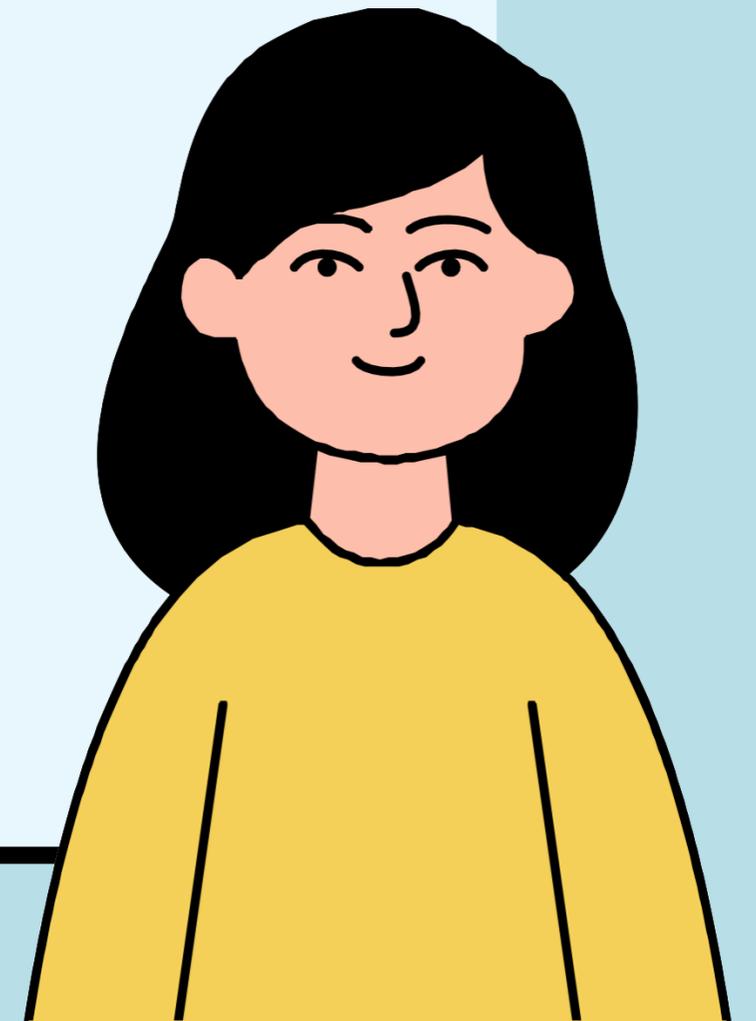
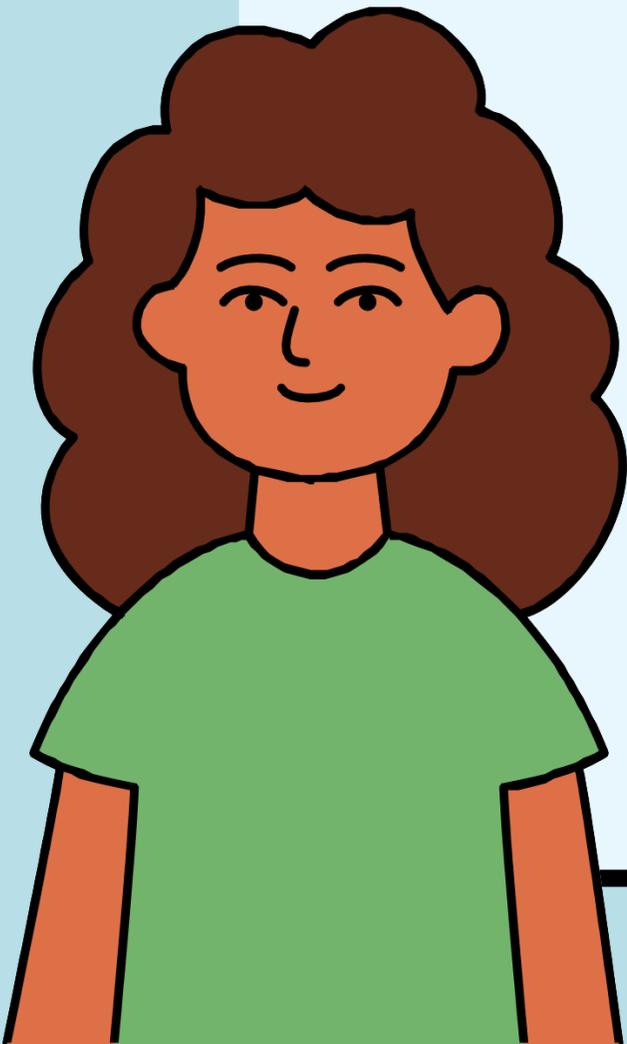
Frame shift
mutation
• Addition
(insertion)
• Deletions

Trinucleotide
repeats

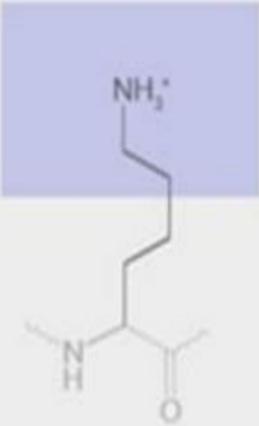
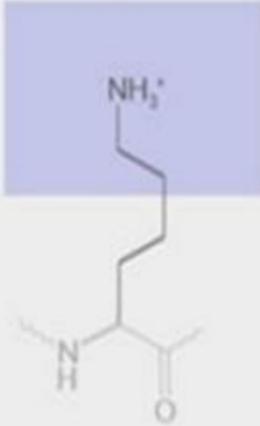
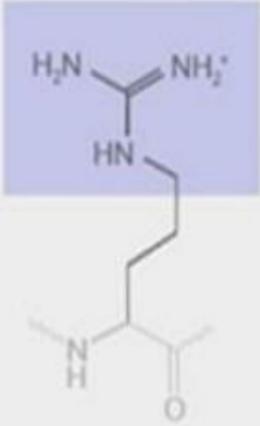
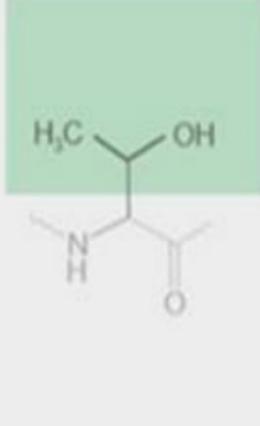


point mutasi

- Point mutation adalah perubahan tunggal dalam urutan nukleotida DNA. Perubahan terjadi Ketika satu basa diganti dengan basa yang berbeda
- Nama lain point mutation adalah substitusi basa tunggal



Point mutations

	No mutation	Point mutations			
		Silent	Nonsense	Missense	
				conservative	non-conservative
DNA level	TTC	TTT	ATC	TCC	TGC
mRNA level	AAG	AAA	UAG	AGG	ACG
protein level	Lys	Lys	STOP	Arg	Thr
					

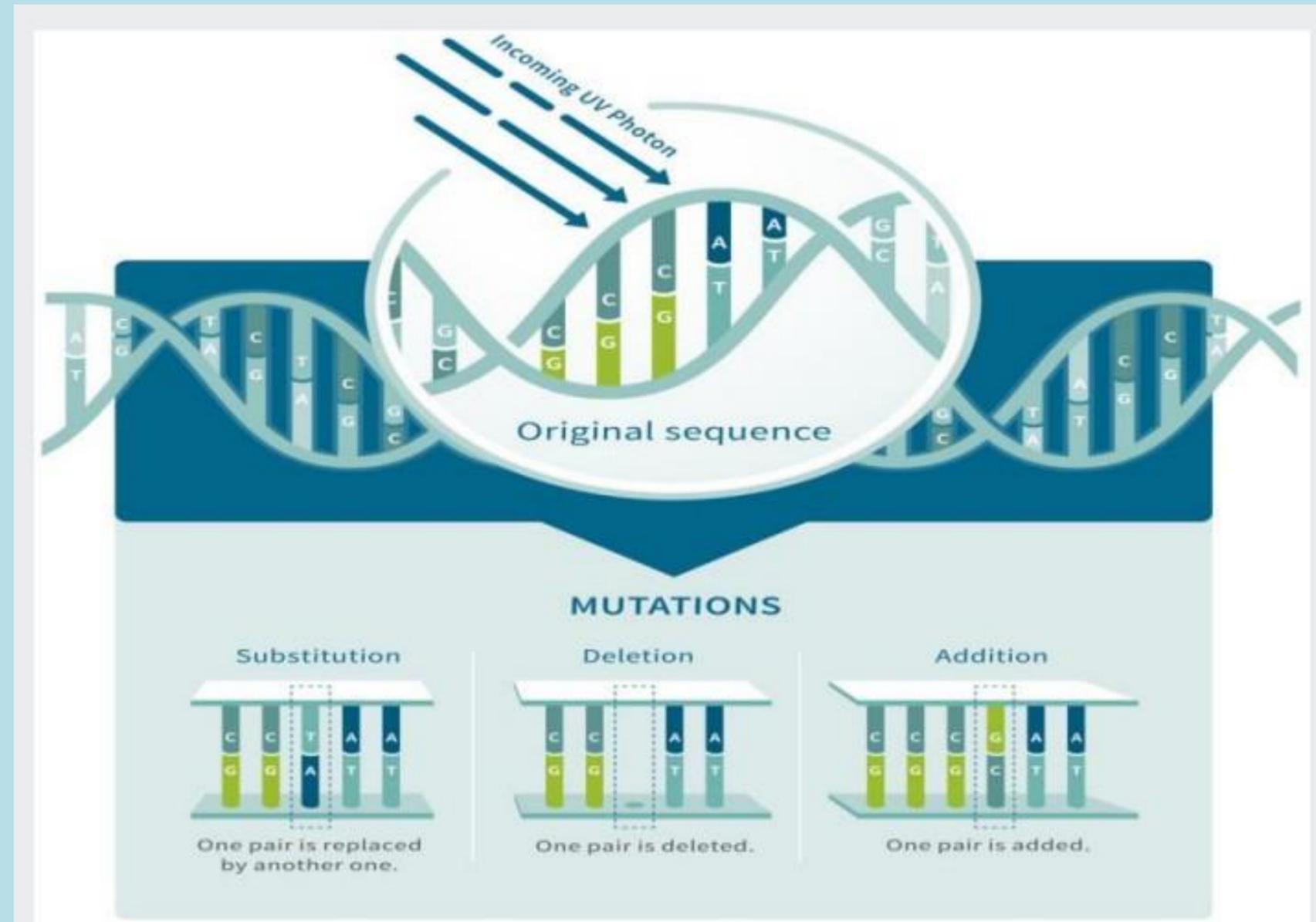
Perubahan basa tidak menyebabkan perubahan pada kodon

Perubahan basa → stop kodon

Perubahan basa → perubahan kodon

basic 
polar 

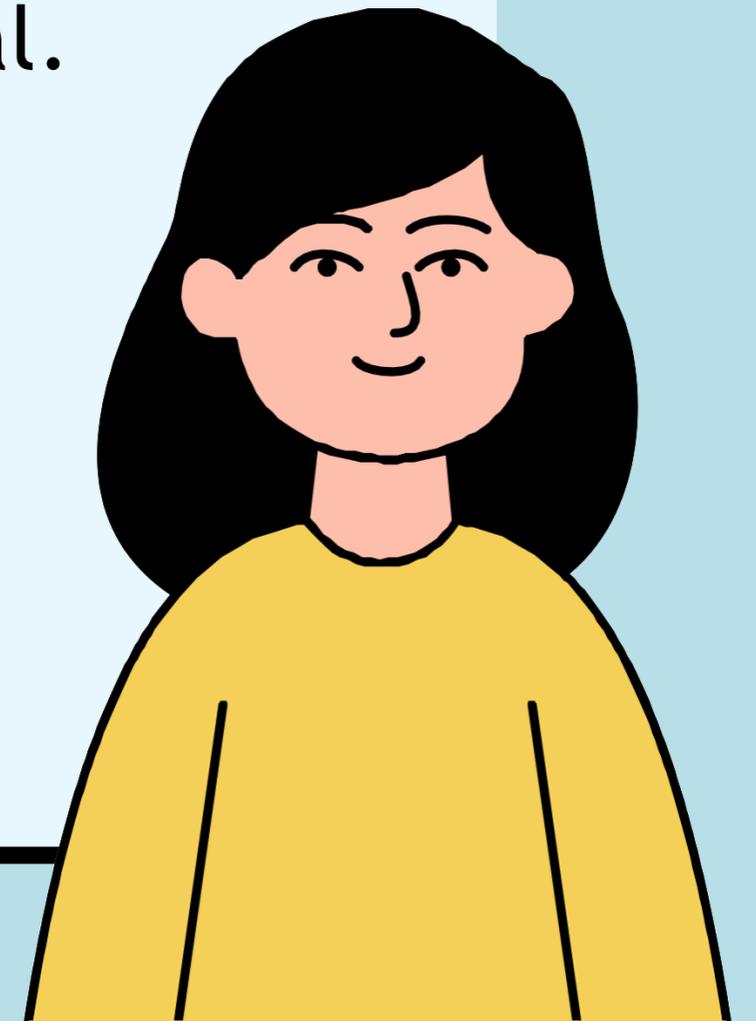
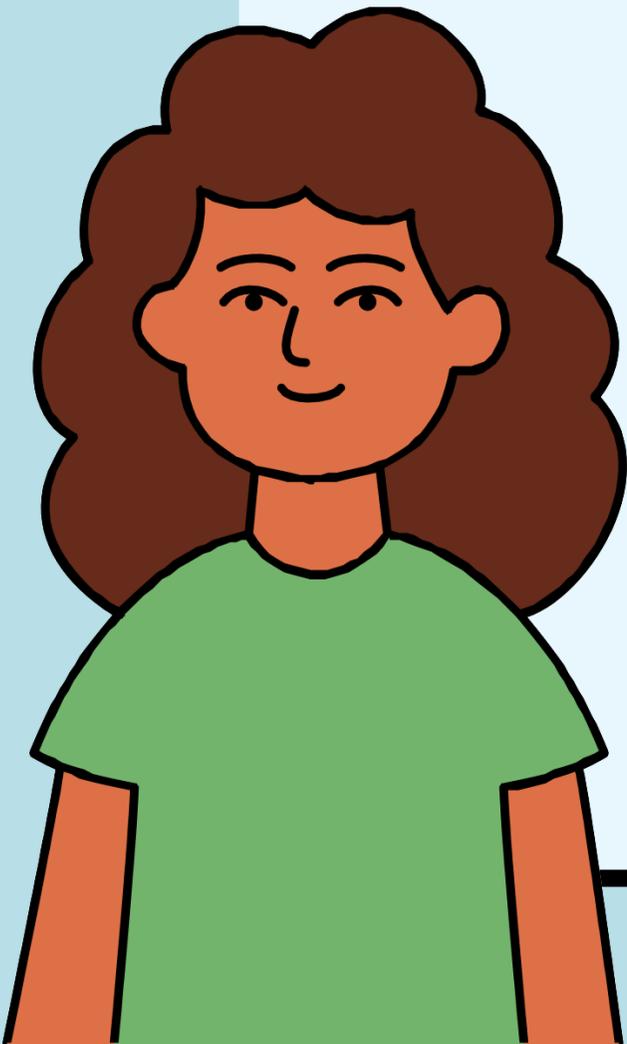
Frame shift mutations

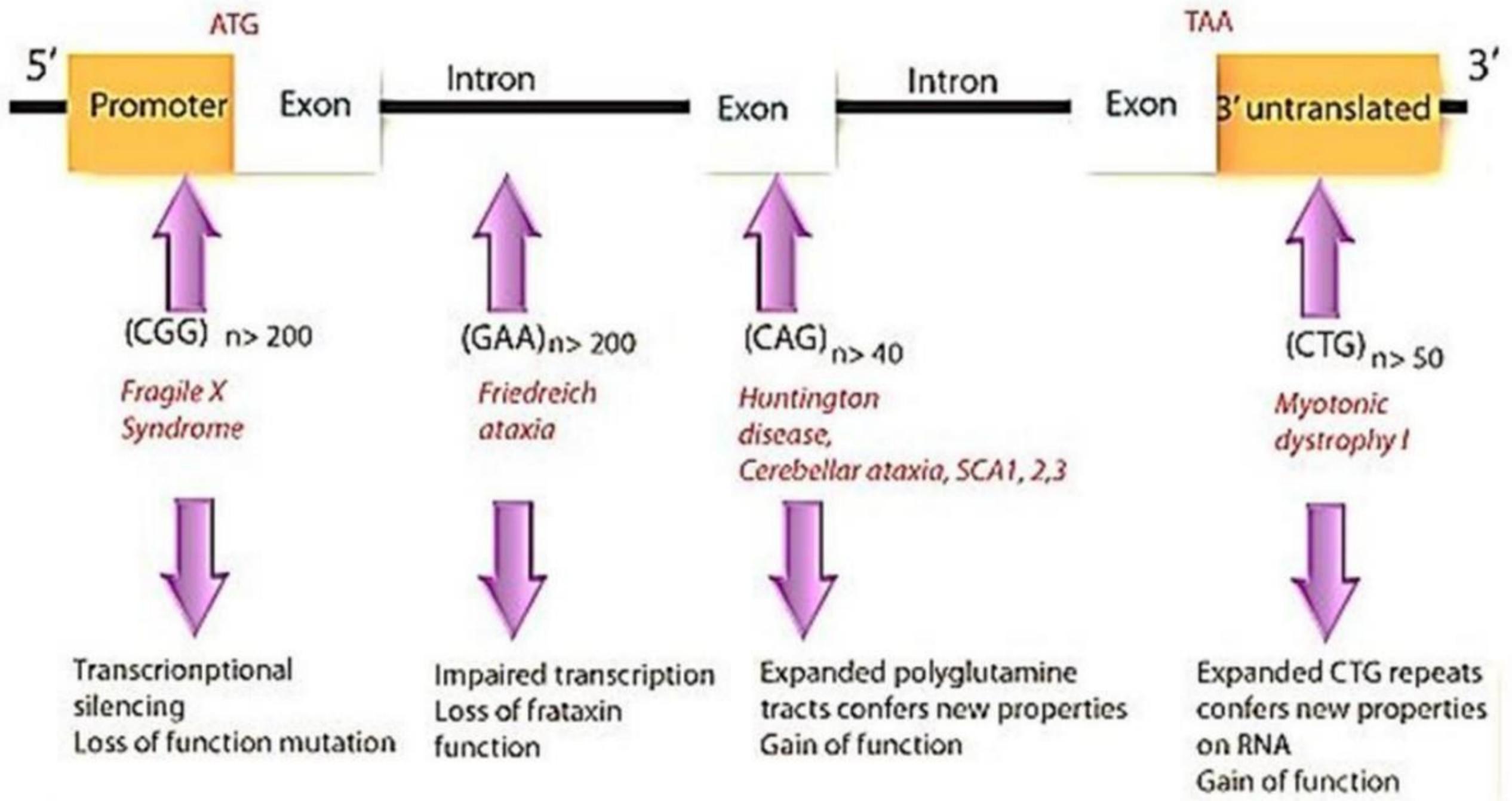


Mutasi frameshift adalah mutasi genetik yang disebabkan oleh penghapusan atau penyisipan dalam urutan DNA yang menggeser cara urutan dibaca.

Trinucleotide repeats

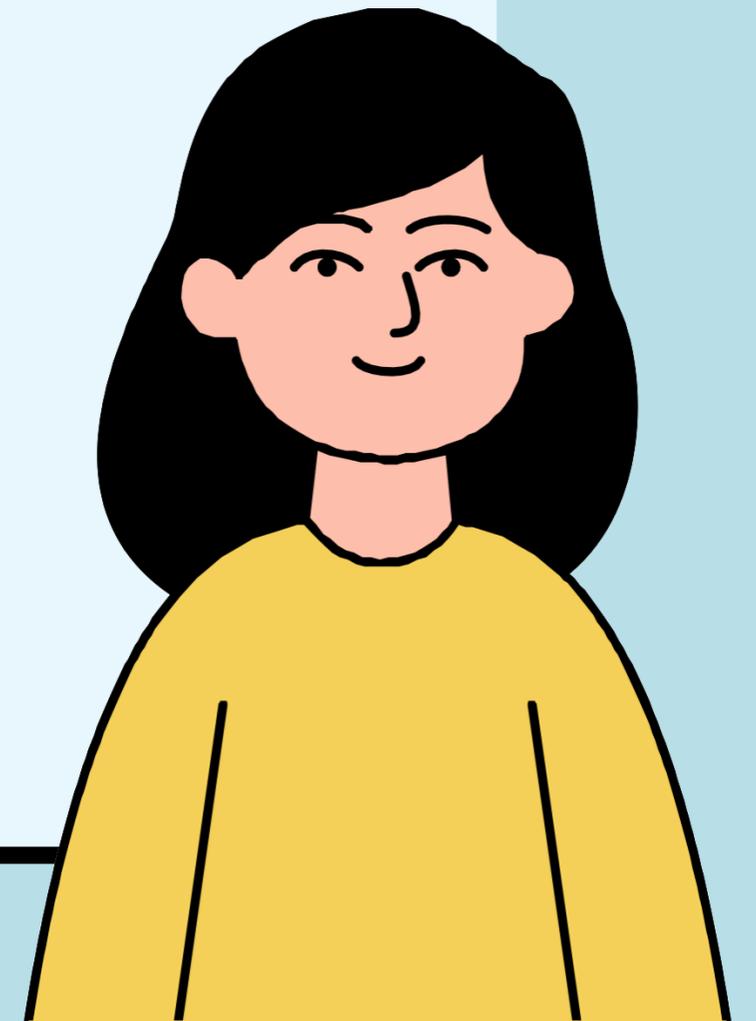
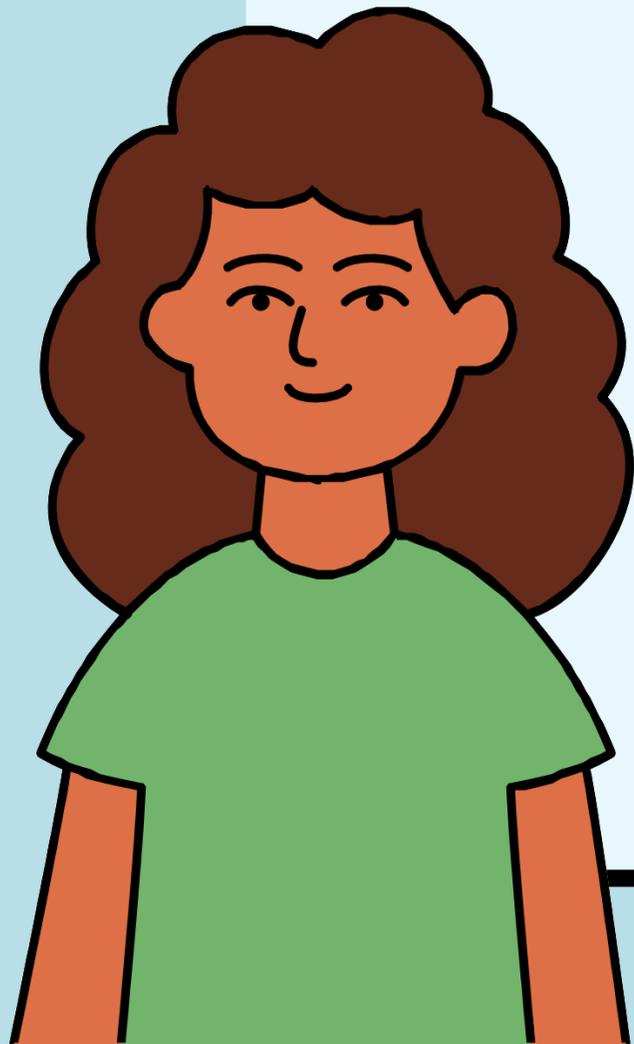
- Beberapa gen mengandung "pengulangan trinukleotida". Variasi dalam pengulangan adalah normal. Namun, memiliki terlalu banyak salinan dari pengulangan tertentu dapat menyebabkan penyakit
- **Paternal anticipation** : penyakit Huntington, Ataksia Friedreich
- **Maternal anticipation** : Distrofi miotonik, sindrom Fragile





Mutasi Kromosom

- Perubahan sejumlah besar fragmen DNA pada kromosom. Hal ini terjadi karena adanya kesalahan dalam mekanisme untuk perbaikan untai ganda yang putus
- Perubahan ini mempengaruhi fungsi sejumlah gen sehingga mengakibatkan perubahan fenotipe



Mutasi kromosom

Inversi, kesalahan saat menyambungkan untai ganda DNA yang putus pada kromosom yang sama

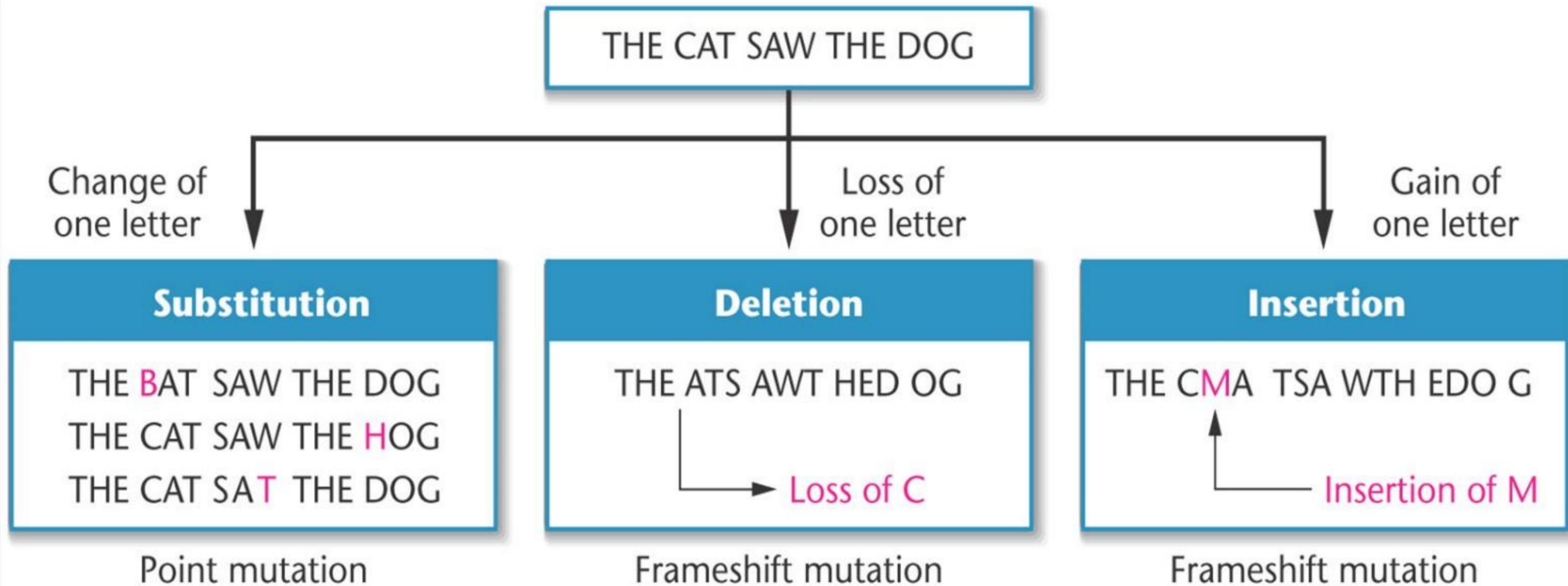
Delesi, terjadi apabila kromosom kehilangan satu fragmen DNA untai ganda

Mutasi kromosom

Translokasi, terjadi kesalahan penyambungan sehingga terjadi pertukaran tempat antar kromosom satu dengan kromosom yang lain sebagai akibat adanya rekombinasi

Inseri, terjadi apabila ada penyelipan fragmen DNA untai ganda dari kromosom yang satu ke kromosom yang lain

Efek Mutasi



Insertion mutation

WHAT ARE MUTATIONS?



**jenis mutasi yang terjadi
ketika pasangan basa
tambahan disisipkan ke
dalam DNA**

Deletion mutation



**jenis mutasi yang terjadi
ketika potongan kode
genetik dalam DNA
dihilangkan**

Fragile X syndrome: Common Physical Features

Prominent, Broad Forehead

Large Ears

Long Face

Strabismus (Squint)

Prominent Jaw, Dental

Crowding High Arched Palate

Murmur/ Mitral Valve Prolapse

Hollow Chest

Hypotonia / Joint Laxity

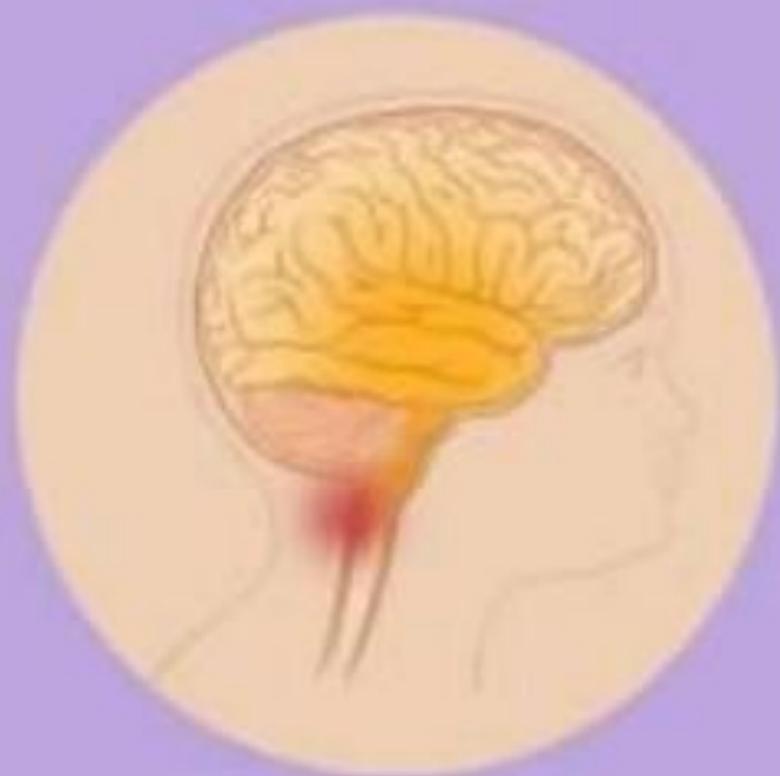
Scoliosis

Macro-Orchidism



Symptoms

- Autism Spectrum Disorders
- Intellectual Disability
- Distinct facial features



Ataksia Friedreich

Degenerasi pada sumsum tulang belakang dan saraf tepi serta otak kecil (degenerasi spinocerebellar)



Kelengkungan tulang belakang (skoliosis)

Kellemahan pada otot, dan kekakuan otot

Deformitas kaki, seperti kaki bengkok





Thankyouuu

Biologi Sel Molekuler

Penyakit genetic dan prinsip bioteknologi

apt. Desi Novita Revianawati., M.Farm

Pertemuan 14

Kloning

- Kloning bahasa Inggris, yaitu cloning. kloning berawal dari bahasa Yunani klon yang berarti tangkai. Klon berarti suatu individu yang dihasilkan secara aseksual yang berasal dari sel somatik tunggal orang tuanya dan secara genetik memiliki sifat identik.
- Teknologi kloning menunjukkan hasrat manusia untuk dapat mengontrol masa depan. Namun, tentu saja persoalan kloning ini bukanlah hal yang sederhana. Perlu adanya pemahaman mendasar dan mendalam kaitannya dengan bioetika yang menyertai penelitian-penelitian terkait kloning, terutama dalam kloning manusia.
- Seiring perkembangan penelitian di bidang bioteknologi, istilah kloning tidak lagi hanya terbatas pada penciptaan individu baru, namun berkembang menjadi istilah yang lebih dapat diterima oleh keilmuan yang berdasarkan etika dan norma agama yang dianut.
- Kloning didefinisikan ulang menjadi suatu proses yang dilakukan untuk menduplikasi, baik gen, sel, maupun organisme secara aseksual. Hasil kloning tersebut secara genetik merupakan replika identik dari gen, sel, maupun organisme yang dikloning. Kloning pada organisme berupa tanaman melalui kultur jaringan tanaman menjadi klon yang legal dan dapat diterima oleh masyarakat.

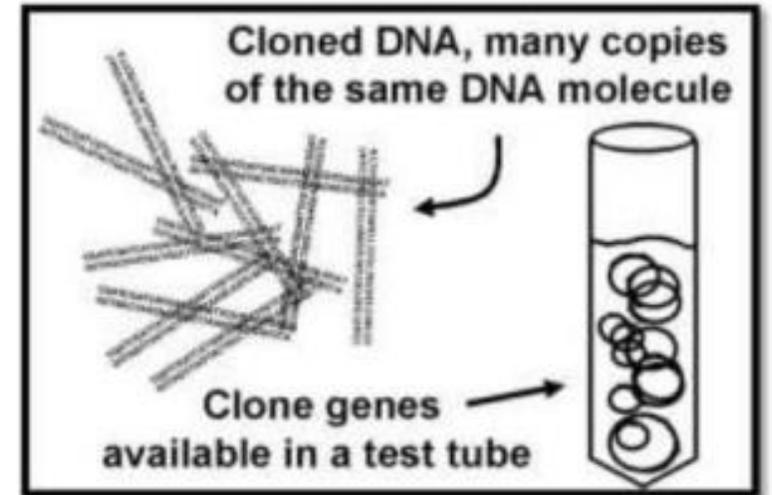
Kloning dapat dibagi menjadi tiga, yaitu

A. kloning gen (transgenic cloning),

B. kloning sel (therapeutic cloning),

C. kloning individu (reproductive cloning).

Kloning gen dimaksudkan untuk mendapatkan gen target melalui teknologi rekombinasi DNA. Kloning ini tidak bisa terlepas dari teknologi DNA rekombinan, yaitu dengan memindahkan sebagian fragmen DNA yang diinginkan (DNA target) pada suatu elemen replikasi genetik. DNA target tersebut selanjutnya akan diperbanyak dengan sifat genetik yang sama persis, sehingga disebut sebagai kloning gen. Proses kloning gen meliputi



Gambar 4.2. Kloning gen
(Sumber: <http://passel-test.unl.edu/beta/pages/informationmodule.php?idinformationmodule=959197140&topicorder=3&maxto=16&mintto=0>)

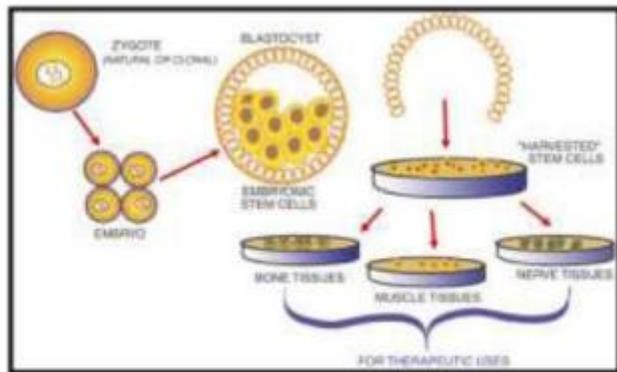
Tahapan, yaitu

- (1) isolasi fragmen DNA spesifik dari genom suatu organisme,
- (2) penentuan sekuen atau fragmen DNA target yang akan dikloning,
- (3) rekombinasi fragmen DNA target, dan
- (4) ekspresi gen target dalam sel kompeten.

Tujuan kloning gen:

1. mendapatkan gen sebagai penelusur
2. mendapatkan gen untuk dianalisis urutan nukleotidanya
3. mendapatkan gen untuk diekspresikan melalui vektor

Kloning sel merupakan suatu kloning yang dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan sel punca (stem cells) yang dapat digunakan untuk mempelajari perkembangan manusia dan penyembuhan penyakit. Ilmuwan berharap teknik ini dapat digunakan untuk pengobatan penyakit pada manusia dan hewan melalui produksi organ untuk transplantasi. Tujuan utama kloning sel ini adalah untuk menghasilkan stem sel embrionik (embryonic stem cells).

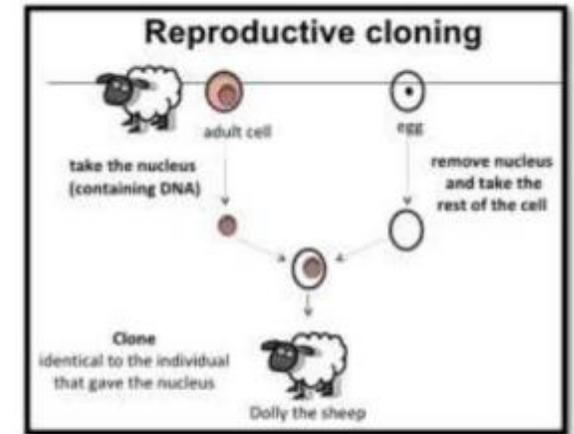


Gambar 4.3. Kloning sel (Sumber: <https://humancloninginfo.weebly.com/human-cloning.html>)

Tipe sel punca (stem cells) sendiri dibagi menjadi dua, yaitu: 1. Sel punca embrional (embryonic stem cells), berasal dari embrio yang berkembang dari ovum yang telah dibuahi secara in vitro 2. Sel punca dewasa (adult stemcells), berasal dari sel yang belum terdiferensiasi yang ditemukan antara sel terdiferensiasi pada jaringan atau organ.

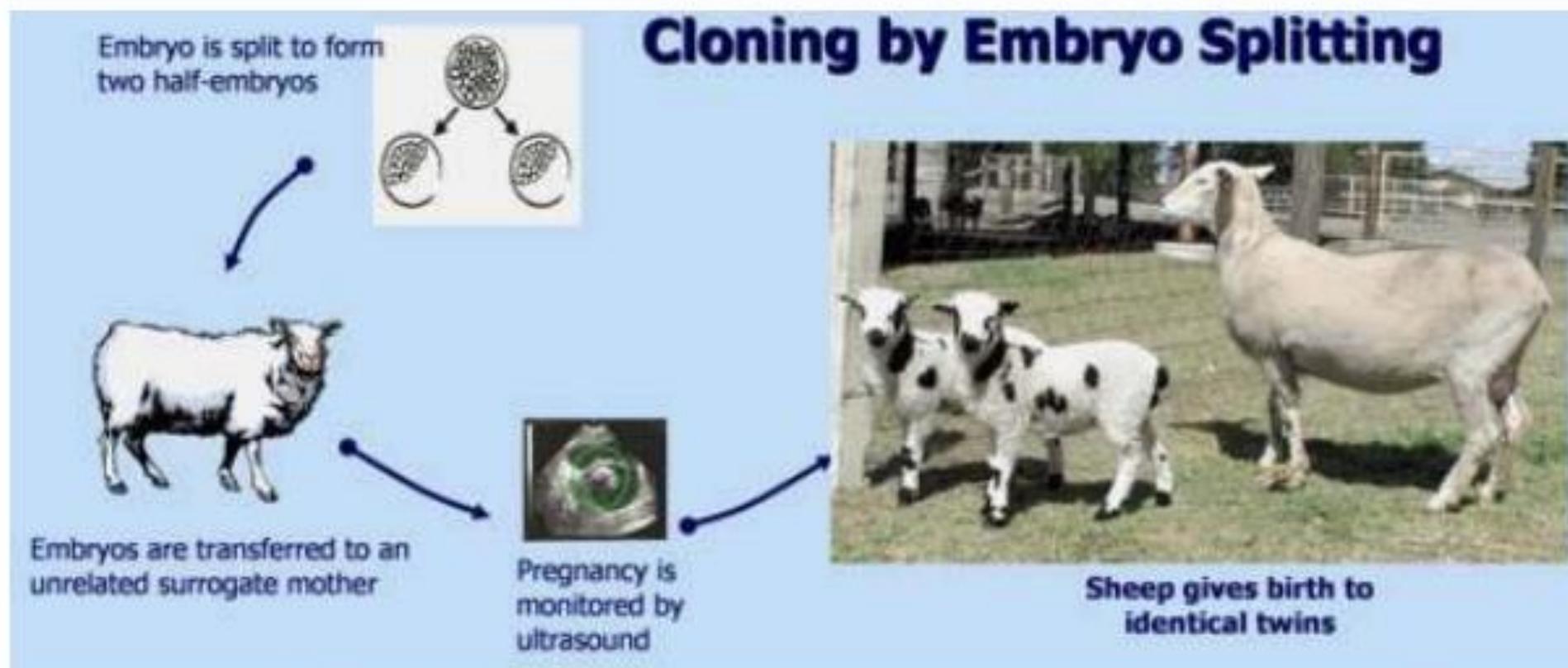
- Kloning individu memiliki tujuan utama untuk menciptakan organisme baru yang secara genetik memiliki sifat yang identik dengan induknya. Proses kloning individu ini memperoleh banyak tantangan, baik dari pro kontra masyarakat, maupun dari proses kloningnya sendiri, terutama untuk kloning hewan maupun manusia. Beberapa tantangan yang harus dihadapi peneliti, terlepas dari pro kontra masyarakat, saat akan melakukan kloning individu berupa hewan adalah sebagai berikut:

1. kloning hewan memiliki potensi sukses yang sangat rendah
2. banyak kemungkinan timbulnya masalah pada perkembangan fetal
3. adanya masalah kesehatan setelan individu hasil kloning dilahirkan
4. munculnya large offspring syndrome, yaitu ukuran anakan yang 20-30% lebih besar dari normal.



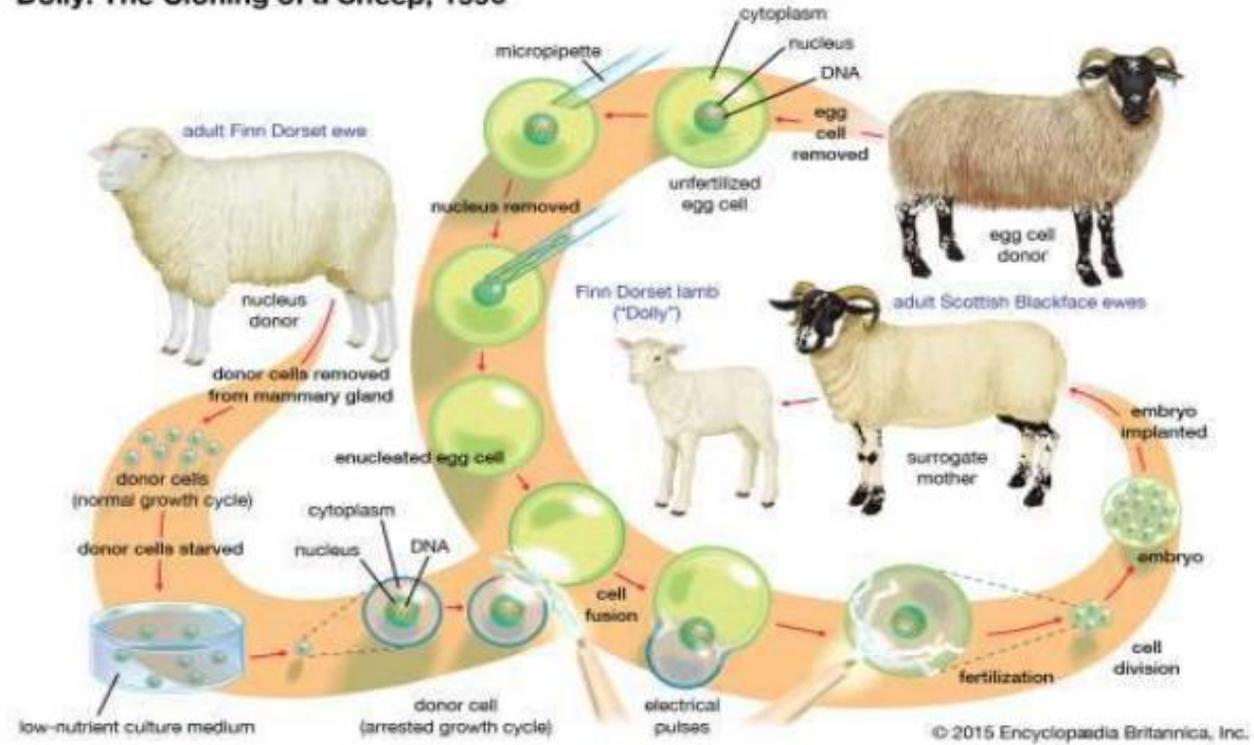
Gambar 4.4. Kloning individu (Sumber: <https://www.slideshare.net/lolaceituno/genetic-engineeringstemcellsandcloning>)

- Pada kloning individu, dikenal adanya dua teknik yaitu teknik pemisahan embrio (embryo splitting) dan transfer nukleus (nuclear transfer) yang biasanya menggunakan nukleus dari sel somatik (somatic cell nuclear transfer). Teknik pemisahan embrio (embryo splitting/embryo twinning) dilakukan melalui operasi pemisahan embrio yang terbentuk saat proses embriogenesis. Embrio dipisahkan menjadi dua saat tahapan blastosis sehingga dalam perkembangannya, akan didapatkan dua individu yang identik secara genetik. Teknik pemisahan embrio untuk manusia pertama kali dilaporkan pada tahun 1993 yang tentu saja memicu debat berkepanjangan berkaitan dengan ketidaksiannya dengan norma-norma yang berlaku di masyarakat dunia. Meskipun proses munculnya kelahiran kembar identik dapat terjadi secara alami, namun proses pemisahan embrio secara buatan dengan teknik embryo splitting/embryo twinning ini masih menjadi perdebatan.



Gambar 4.5. Teknik pemisahan embrio (embryo splitting/embryo twinning) (Sumber: <https://animalbiotech.ucdavis.edu/cloning>)

Dolly: The Cloning of a Sheep, 1996



Gambar 4.6. Proses transfer nukleus pada penelitian domba Dolly oleh tim Ian Wilmut dari University of Edinburg (Sumber: <https://www.britannica.com/topic/Dolly-cloned-sheep>)

Antibodi monoklonal

- Antibodi monoklonal adalah antibodi yang diproduksi di laboratorium yang dirancang untuk mengenali dan mengikat reseptor tertentu yang ditemukan di permukaan sel. Antibodi ini berasal dari antibodi alami, protein kompleks yang berasal dari satu sel B yang dibuat oleh sistem pertahanan imunologi tubuh untuk mengenali dan melawan penyerang asing seperti bakteri dan virus.
- **Bentuk Y berwarna biru dan hijau pada gambar ini mewakili antibodi monoklonal dalam proses pengikatan dengan reseptor yang ditemukan pada permukaan sel. Kredit: Anna Tanczos, Wellcome Images.**

- Produksi antibodi monoklonal melibatkan beberapa langkah. Pertama-tama, hewan laboratorium disuntik dengan target yang diinginkan untuk merangsang sistem kekebalannya. Setelah itu, sel-sel penghasil antibodi, limfosit B, diambil dari limpa hewan dan digabungkan dengan garis sel mieloma immortal untuk menciptakan sel hibrida, atau hibridoma. Sel-sel hibrida kemudian disaring untuk menemukan sel yang mengeluarkan antibodi dengan spesifisitas yang diinginkan untuk target tertentu. Setelah diidentifikasi, sel hibrida dikloning untuk membentuk koloni hibridoma. Koloni ini kemudian dipelihara dalam media kultur untuk menyediakan pasokan antibodi monoklonal yang berkelanjutan. Setiap antibodi yang disekresikan oleh sel hibrida identik (monoklonal) dan memiliki kapasitas untuk mengikat reseptor spesifik yang ditemukan di permukaan sel

- Salah satu keuntungan utama antibodi monoklonal adalah dapat diproduksi dengan sangat murah dan dalam skala besar. Sekarang, antibodi ini secara rutin digunakan sebagai probe di laboratorium untuk mengungkap jalur berbagai penyakit, baik itu kanker, penyakit Alzheimer, atau gangguan autoimun. Antibodi monoklonal juga penting untuk penentuan jenis jaringan untuk transplantasi organ dan darah untuk transplantasi. Setiap hari, antibodi ini juga digunakan untuk menganalisis cairan tubuh untuk diagnosis dan memantau infeksi di rumah sakit. Antibodi ini juga berperan penting dalam mendeteksi serangan jantung. Di luar klinik, antibodi monoklonal merupakan komponen penting dalam alat uji di rumah untuk menentukan ovulasi, kehamilan, menopause, dan banyak kondisi lainnya.

Antibodi monoklonal

22 Oktober 2019	Obat monoklonal yang awalnya dilarang untuk mengobati penyakit Alzheimer mendapat lampu hijau baru dari FDA untuk pengujian penyakit tersebut	Biogen
15 November 2019	FDA menyetujui obat antibodi monoklonal pertama untuk membantu mengobati komplikasi menyakitkan yang terkait dengan penyakit sel sabit	Novartis
18 Desember 2019	FDA memberikan persetujuan yang dipercepat untuk obat Seattle Genetics untuk kanker urothelial stadium lanjut	Genetika Seattle
21 November 2020	FDA mengeluarkan otorisasi darurat untuk pengobatan antibodi monoklonal pertama bagi pasien COVID-19 dengan gejala ringan hingga sedang	Perusahaan Farmasi Regeneron
8 Desember 2021	FDA mengeluarkan otorisasi darurat untuk antibodi monoklonal kerja panjang untuk pencegahan pra-paparan COVID-19 pada pasien tertentu	AstraZeneca

11 Februari 2022 FDA mengeluarkan otorisasi penggunaan darurat untuk pengobatan antibodi monoklonal baru untuk COVID-19 yang aktif melawan varian omicron.

AbCellera, Eli Lilly

29 November 2022 Hasil uji klinis fase 3 menunjukkan antibodi monoklonal dapat memperlambat penumpukan protein amiloid yang ada di otak pasien dengan penyakit Alzheimer dini

Eisai

26 Januari 2023 FDA AS menyetujui antibodi monoklonal pertama untuk pengobatan penyakit Alzheimer

Eisai, Biogen

30 Agustus 2023 Royal Society menganugerahkan Herman Waldmann Bahasa Indonesia: Medali Kerajaan mereka untuk 'perintis antibodi monoklonal untuk terapi manusia.'

Waldmann

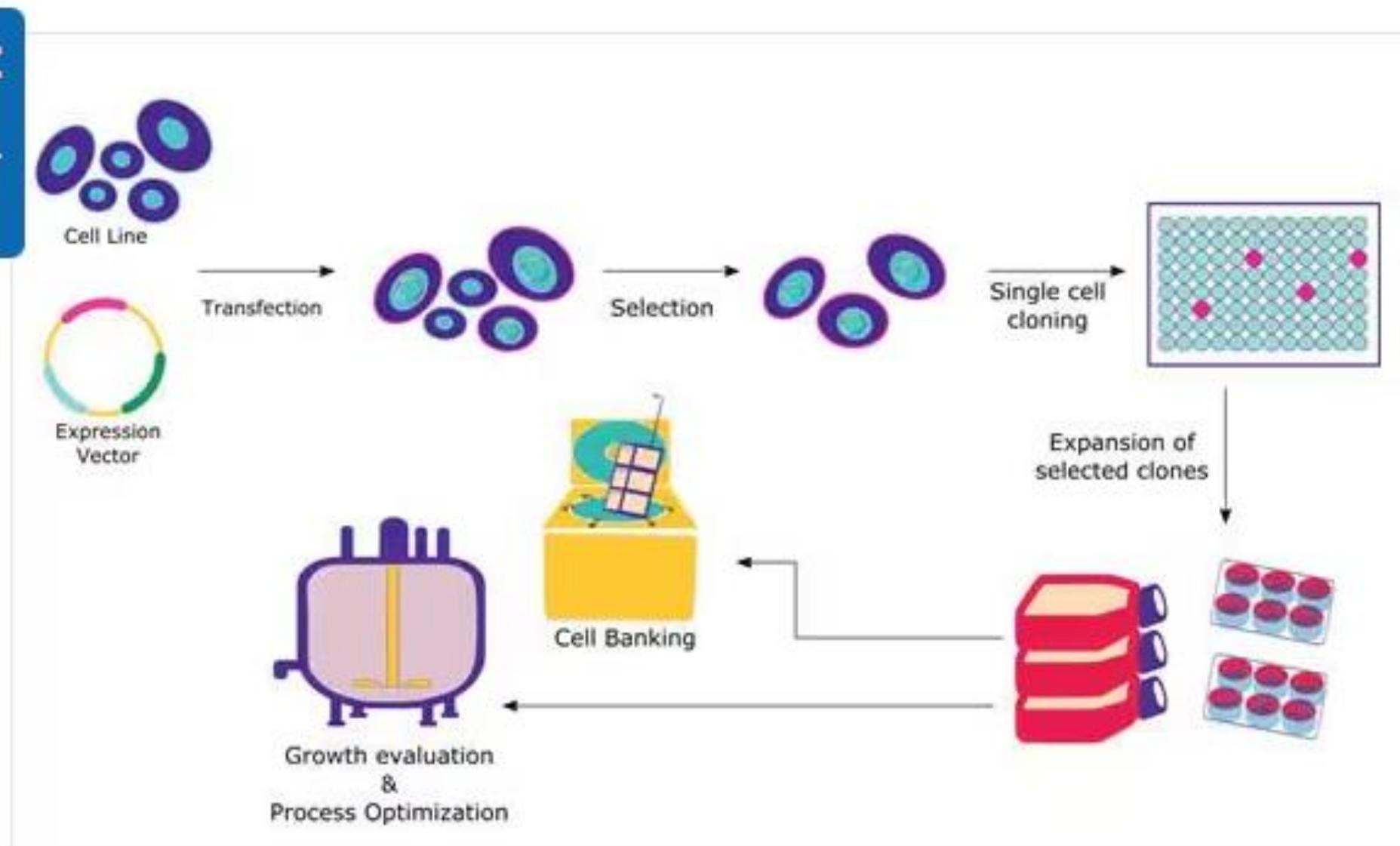
3 November 2023 Antibodi monoklonal yang dihirup terbukti memberikan perlindungan terhadap COVID-19 pada primata non-manusia

Truong, Forthal, Haigwood, Streblow

Aridis Pharmaceuticals, Universitas California, Irvine, Oregon Universitas Kesehatan & Sains

Ekpresi gen kloning

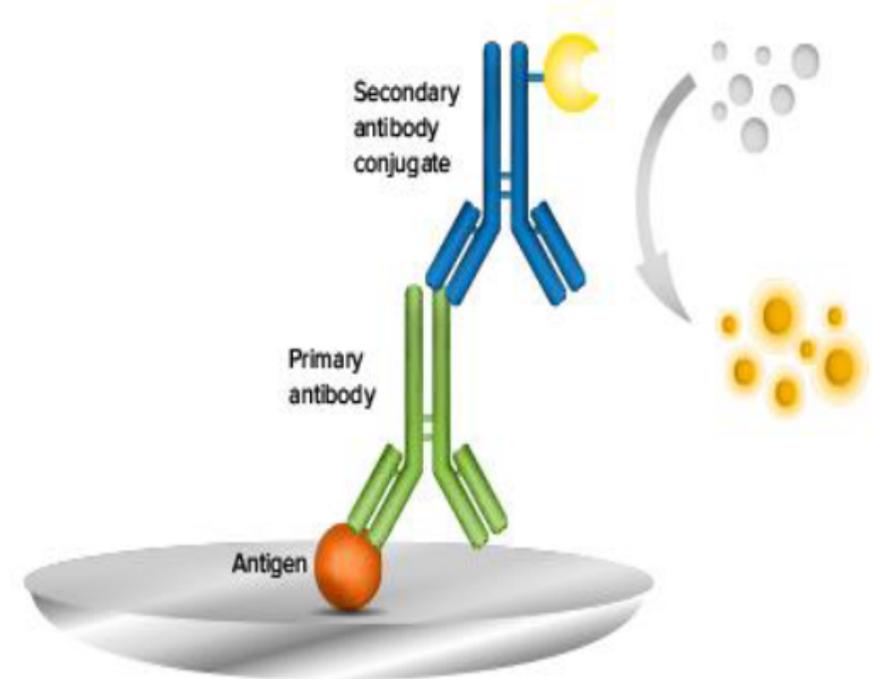
- Teknologi kloning dan ekspresi gen digunakan oleh para peneliti di berbagai bidang untuk menyelidiki berbagai pertanyaan biologis, termasuk memahami fungsi gen, analisis jalur molekuler, perkembangan embrio, penelitian penyakit, dan bioproses biologi dan terapi. Setelah gen atau urutan genetik diidentifikasi, para peneliti harus memilih strategi kloning molekuler dan sistem ekspresi protein berbasis sel terbaik berdasarkan kebutuhan aplikasi tertentu. Untuk informasi tambahan tentang ekspresi gen menggunakan teknologi CRISPR, atau pembungkaman gen menggunakan reagen RNAi.



Ekspresi Protein Rekombinan dalam Sel Mamalia

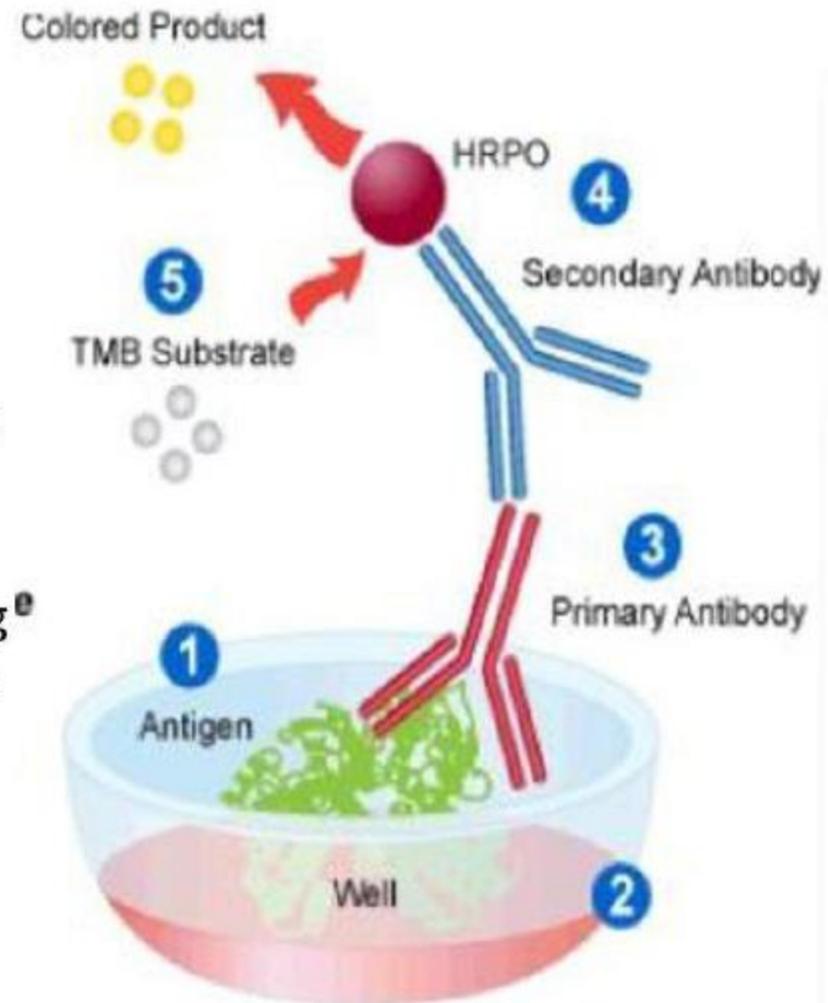
ELISA ***(ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY)***

1. Merupakan uji serologik untuk mendeteksi antigen atau antibodi pada berbagai jenis penyakit infeksius, non-infeksius, kanker, autoimun, hormon, dan alergen makanan.
2. ELISA memberikan pengukuran antigen atau antibodi yang baik secara relatif maupun kuantitatif.
3. ELISA dapat digunakan untuk mendeteksi adanya antigen yang dikenali oleh antibodi atau dapat digunakan untuk menguji antibodi yang mengenali antigen.



Prinsip Dasar ELISA

1. Antigen/sampel ditambahkan ke *plate*
2. *Blocking buffer* ditambahkan untuk menghalangi tempat pengikatan protein
3. Tambahkan antibodi primer yang sesuai
4. Tambahkan konjugat antibodi sekunder-enzim yang sesuai yang mengenali dan berikatan dengan antibodi primer
5. Tambahkan substrat TMB yang akan dikonversi oleh enzim menjadi bentuk yang terdeteksi



ELISA

ANTIGEN VERSUS ANTIBODY

An antigen is any substance that triggers an immune response in the body

Also called immunogens

Can be either proteins, carbohydrates, lipids or nucleic acids

Interacting domain with the antibody is called the epitope

Cause either diseases or allergic reactions

The four types include exogenous antigens, endogenous antigens, autoantigens, and neoantigens

An antibody is a blood protein that is produced against a specific antigen

Also called immunoglobulins

Glycoproteins

Variable site can bind to the epitope

Protect the body from antigens either by immobilizing the antigen or lysing the pathogen

The four types include IgM, IgG, IgE, IgD, and IgA

Visit www.pedraa.com

Activate Window
Go to Settings to activate